كيميـــــاء تحليـــــل الأغـــــذية

الأســـــس العلميـــــة وتطبيقـــــاتها

Chemistry of Food Analysis

Principles and Applications

إعداد وتأليف

أ.د. محمد أمين عبدالله
أستاذ علوم الأغذية
كلية الزراعة - جامعة عين شمس
عميد كلية التربية النوعية (٩٤/١٩٩٧)

أ.د. ممدوح حلمي القليوبي
أستاذ علوم الأغذية
كلية الزراعة - جامعة عين شمس

د. محمد مجدي مصطفى خلاف
أستاذ علوم الأغذية المساعد
كلية الزراعة - جامعة عين شمس

دار الشروق

كيمياء تحليل الأغذية

الأسس العلمية وتطبيقاتها

Chemistry of Food Analysis

Principles and Applications

الطبعة الأولى
١٤٢٣هـ - ٢٠٠٢م

© دار الشروق
أسسها محمد المعلم عام ١٩٦٨

القاهرة : ٨ شارع سيبويه المصرى
رابعة العدوية - مدينة نصر - ص . ب : ٣٣ البانوراما
تليفون : ٤٠٢٣٣٩٩ - فاكس : ٤٠٣٧٥٦٧ (٢٠٢)
البريد الإلكترونى: email: dar@shorouk.com

الفهرس

البروتينات فى الأغذية

الليبيدات

الفيتامينات فى الأغذية

الرماد والعناصر المعدنية فى الأغذية

الصبغات والمواد الملونة

الحموضة فى الأغذية

مقدمـــة

تشير الأبحاث والدراسات الحديثة المستفيضة فى مجال الأغذية إلى حتمية التأكد من سلامة الغذاء كعامل أساسى فى تجنب الكثير من الأمراض والمساهمة فى بناء الجسم السليم والعقل السليم ومن ناحية أخرى فإن منظمة الأمم المتحدة والمتمثلة فى منظمة الغذاء والتغذية ومنظمة الصحة العالمية فى جميع الاجتماعات المشتركة (FAO / WHO) تشير إلى الأهمية القصوى للغذاء الآمن ومن أجل ذلك هناك العديد من الاجتماعات والمؤتمرات بين هذه المنظمات ومنظمة دستور الأغذية CODEX لتوحيد نظم ومواصفات وطرق تصنيع الأغذية وتحليلها ثم تداول هذه الوثائق بين الدول الأعضاء فى هذه المنظمات الدولية للالتزام والاتفاق على تطبيق المعايير الدولية الخاصة بإنتاج الغذاء الآمن .

وتلعب طرق تحليل الأغذية دورا رئيسيا فى المجال السابق الإشارة إليه وبناء عليه فقد أخذت الدول فى الاعتبار تحليل الأغذية من النواحى الآتية :

- الطرق الكيميائية فى تحليل الأغذية Chemical analysis of Food stuffs
- الطرق الطبيعية فى تحليل الأغذية Physical analysis of Food stuffs
- الطرق الحسية فى تحليل الأغذية Sensory analysis of Food stuffs
- الطرق البيولوجية فى تحليل الأغذية Biological analyses of Food stuffs
- الطرق الميكروبيولوجية فى تحليل الأغذية Microbiological analyses of Food stuffs

كما أن هناك بعض الطرق التى تجمع بين واحد أو أكثر من هذه الطرق .

هذا والجدير بالذكر أن تحليل الأغذية بمفهومه الشامل يشمل تحليل المواد الغذائية للتعرف على خصائصها الكيميائية والطبيعية والحسية والبيولوجية والميكروبية أى بمعنى آخر يأخذ فى الاعتبار ما يسمى بتحليل المكونات الرئيسية Major chemical constituents وتحليل

المكونات الأخرى التى توجد بتركيزات منخفضة أو التى توجد على صورة أجزاء فى المليون أو أجزاء فى البليون وهذه المواد تعرف باسم Minor chemical constituents .

ويدخل فى نطاق هذه التحاليل السابق الإشارة إليها ما يلى :

- تقدير الرطوبة .
- تقدير المواد البروتينية والأحماض الأمينية .
- تقدير المواد الدهنية والزيوت والأحماض الدهنية .
- تقدير المواد الكربوهيدراتية وأنواع السكريات .
- تقدير العناصر المعدنية وخاصة المعادن الثقيلة .
- تقدير الفيتامينات الذائبة فى الماء وتلك الذائبة فى مذيبات الدهون .
- تقدي المواد الملونة فى الأغذية سواء التى تذوب فى الماء أو تلك التى تذوب فى مذيبات الدهون .
- تقدير الأحياء الدقيقة فى الأغذية (سواء الفطريات أو الخمائر أو البكتريا) .
- تقدير المواد السامة فى الأغذية سواء التى أساسها بعض المواد الكيميائية (عناصر المعادن الثقيلة) أو التى أساسها يرتبط بالأحياء الدقيقة مثل الأفلاتوكسين والأوكرا توكسيسن وغيرها .
- تقدير صلاحية الأغذية للاستهلاك الآدمى طبقًا للمواصفات التى تصدرها الهيئة المصرية للتوحيد القياسى التابعة لوزارة الصناعة والتنمية التكنولوجية .

وللوصول إلى المعايير والتقديرات السابقة الإشارة إليها فإن هناك العديد من مصادر المعلومات يتم اللجوء إليها للتأكد من طرق التحليل المستخدمة ومن هذه المصادر ما يلى :

- المراجع العلمية Text books and Refcrence books
- المجلات العلمية المتخصصة Scientific Journals
- براءات الاختراعات Patents

- الشبكة الدولية للمعلومات International net works
- الموسوعات العلمية Scientific encylopeclia
- بنوك المعلومات Interna tionl banks
- المواصفات الدولية Internationl standards organization ومنها ISO 14000 , ISO 9000
- الأبحاث التطبيقية المنشورة .

ونظرا للأهمية القصوى بتحليل الأغذية فقد أخذ فى الاعتبار الاهتمام بتدريس هذه المادة بقسم علوم الأغذية بكلية الزراعة جامعة عين شمس وقد تبنى هذا الاتجاه الأستاذ الدكتور / محمود فهمى حسين والذى كان له الفضل الأكبر والرئيسى فى هذا المجال منذ عام ١٩٥٨ ، وقد نال شرف التلمذة على يديه أ٠د٠ / يحيى محمد حسن والذى أضاف إلى مجال تحليل الأغذية من خبراته المتعددة ثم حمل الراية بعد ذلك أ٠د٠ محمد الغرباوى أ٠د٠ محمد أمين عبد الله أ٠د٠ ممدوح القليوبى ، أ٠د٠ مجدي الشيمي ، د٠ محمد مجدي ٠

وقد تبنى الجميع استخدام الأجهزة الحديثة فى تحليل الأغذية ومنها على سبيل المثال :

- استخدام أجهزة الجاز كروماتوجرافى Gas chromatography
- استخدام أجهزة HPLC
- استخدام أجهزة الأشعة السينية بأنواعها Infra red analyses
- استخدام أجهزة الأشعة تحت البنفسجية Ultraviolet analyses
- استخدام أجهزة الهجرة فى المجال الكهربى Electrophorases
- استخدام الميكروسكوب الالكترونى Electronic microscopy

هذا وسوف يتناول هذا الكتاب بعض الاتجاهات السابقة الإشارة إليها متزامنا بعد ذلك فى طبعات أخرى الاتجاهات المختلفة فى تحليل الأغذية .

المؤلفون

تحليل الجودة في الأغذية
Quality Analysis of Foods

هـــناك الكثير من المفاهيم التي تطلق علي خاصية الجودة Quality في مجال التصنيع الغذائي وتحليل الأغذية، فقد عرف Kramer & Twigg عـــام ١٩٧٠ الجودة بأنها محصلة الخصائص والصفات التي تميز الوحدات الفـــردية للمـــركب وتؤثـــر تأثيـــرا معنويا في تحديد درجة القبول بالنسبة للمســـتهلك، كمـــا عـــرف Crosby عام ١٩٧٩ الجودة بأنها مطابقة المنتج للمواصـــفات والمتطلبات بما يحقق رغبات العميل أو المستهلك، كما أوضح Bounds, et al., عـــام ١٩٩٤ أن الجودة تعني الأسس التي تشجع التميز فـــي كـــل شـــيء سواء في المنتجات – الأنظمة – العمليات التكنولوجية – العملـــيات الخدمية وذلك لاستيفاء احتياج متوقع أو مواصفة أداء متفق عليها طـــوال فتـــرة الاســـتخدام المـــتوقع وتتطابق هذه المفاهيم مع مفهوم الجودة المطلـــوبة مـــن الســـوق وهـــي مقـــدار ما تحققه سلعة معينة من رغبات المســـتهلكين كمـــا أن الحكم علي جودة سلعة ما تختلف من سوق لآخر تبعا لاختلاف الأذواق والعادات الغذائية للمستهلك.

وهـــناك جودة تصميم السلعة وهى مقدار ما يمكن أن تناله رتبة معينة مـــن سلعة ما من رضاء المستهلكين عامة. وهناك أيضا جودة التطابق التى تعنى مدى تطابق السلعة المنتجة لمواصفات وخصائص سبق تحديدها.

وعلـــى ذلـــك تعزى الجودة إلى مجموعة من الخواص والصفات التى ترجع إلى مكونات الغذاء.

وتتشـــت تعـــريفات الجـــودة فى المنتجات الغذائية لأنه بالنسبة للتقييم الوصـــفى للغـــذاء فإنه يشمل عدداً من المقاييس المتاحة عن طريق الأجهزة والخـــواص الحســـية، ذلـــك أن المقياس الأساسى لتقييم عملية الإنتاج للسلع الغذائـــية هو الإنتاج وكميته وبالنسبة للمصنع يكون المقياس هو الخصائص وبالنســـبة للتاجر يكون المقياس هو فترة الصلاحية للمنتج وبالنسبة للمستهلك يكون المقياس هو خواص النكهة والقيمة التغذوية والسلامة.

وتهتم تحليل الأغذية بتحديد الخواص ذات الأهمية فى توصيف ما يسمى بالجودة العالية وكذا تحديد درجة السلامة الغذائية. كذلك تحديد التفاعلات الكيماوية والحيوية التى تؤثر سلبا أو إيجابا على جودة وسلامة الغذاء.

ومن المعروف أن الأمان والسلامة الغذائية Food safety تعتبر من أهم المتطلبات لأى غذاء وعلى ذلك فإن المفهوم الشامل للسلامة الغذائية عبارة عن إنتاج غذاء خال من أى ملوثات كيماوية أو ميكروبية تضر بصحة المستهلك ولذا فإن المفهوم الحديث لمراقبة وتحليل الجودة يشمل كل العوامل التى تتحكم فى هذه الجودة وتؤثر عليها، وتتضمن هذه العوامل اختيار المواد الخام المناسبة – طرق التصنيع وتتبعها – عمليات التغليف – عمليات النقل والتداول – التخزين – التسويق والتوزيع ومع التطور السريع فى مجال التصنيع الغذائى فإن مبدأ الجودة والسلامة يتحقق من خلال تطبيق نظام الـ HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point). وعمل الاختبارات والتحليلات اللازمة عند نقاط المراقبة الحرجة والمواد الخام الداخلة فى الإنتاج، وضمان أداء وسلامة عمليات التصنيع على خطوط الإنتاج والمراحل الوسطية أثناء الإنتاج وتحليل المنتجات النهائية وضبط الحدود والمعايير المطلوبة أو المسموح بها. وعلى ذلك فإن معامل تحليل الأغذية تعتبر الأداة الفعالة لتحقيق الرقابة ولذا يجب الحصول على نتائج يعتمد عليها وبطرق رسمية معترف بها محليا ودوليا. حيث إن القياسات غير الدقيقة تنتج عنها مؤشرات غير سليمة فى حالة الإنتاج وتؤدى إلى نتائج عكسية ينتج عنها مخاطر على الصحة العامة وعلى الاقتصاد وكذا فإن توكيد الجودة فى معامل تحليل الأغذية لا يعتبر نشاطاً زائداً يمكن التجاوز عنه ولكنه أحد الأدوات الأساسية للإدارة الفنية فى تحقيق الجودة.

وكما هو معروف فإنه يوجد اختلاف كبير بين الخواص الطبيعية والكيماوية للأغذية المختلفة فمنها السائل والصلب والمعلق والمستحلب والمسحوق والقطبى وغير القطبى.

وجدير بالذكر فإن المحافظة على جودة السلعة فى مستوى قبولها لدى المستهلك مع الحد من تكاليف الإنتاج بقدر الإمكان يعرف بما يسمى بمراقبة

الجـــودة Quality control ويلاحـــظ أن هذا المضمون يختص فقط بالمادة الغذائـــية أى المنتج النهائى، ولذا فقد استحدث اصطلاح الرقابة الشاملة على الجـــودة ليشـــير إلـــى مـــراقبة جودة المواد الخام – العمال – الماكينات – العمليات التكنولوجية – التخزين – التسويق – الإدارة الفنية.

وقـــد تـــم تعـــريف ضبط الجودة وتوكيد الجودة حسب ASQC عام ١٩٨٧ كما يلى:

- نظام الجودة Quality system وهى تعنى التركيب التنظيمى – المسئوليات – الطرق والعمليات والموارد لتطبيق إدارة الجودة.
- ضـــبط الجودة Quality control أو مراقبة الجودة والتى تشمل تقنيات التشغيل – الأنشطة المستحدثة لاستبقاء متطلبات الجودة.
- توكـــيد الجـــودة Quality assurance وهـــى تعنى كل الخطط والإجـــراءات التلقائـــية الضـــرورية لتوفيـــر الثقة الكافية للمنتج أو الخدمة بما يفى بمتطلبات الجودة.

وفـــى مجـــال ضـــبط الجـــودة للمنتجات الغذائية زاد الاهتمام بوضع مواصـــفات قياسية بهدف تنظيم وتسهيل تداول السلع والمنتجات بين المنتج producer والمســـتهلك consumer أو بين المنتج producer والمستورد importer ، والمواصـــفات القياســـية Standard specification فهـــى مجموعة المواصفات أو الخصائص التى تم الاتفاق عليها دوليا أو محليا علي اعتـــبارها الحـــد الأدنـــي الذي يجب أن يتوافر في المنتج أو السلعة، بحيث يصـــبح قـــابلاً للتســـويق والتـــداول والاستهلاك مع جواز الارتفـــاع بتلك الخصـــائص عن الحدود المنصوص عليها فى المواصفة بصورة تؤدى إلى تحسين الجودة وزيادة القابلية للتسويق والاستهلاك.

كما أن تركيز المكونات يكون ذا مدى مختلف، فتوجد المواد النقية مثل المـــاء والسكر والملح أو توجد بعض المغذيات بنسبة ضئيلة مثل الفيتامينات أو الملـــوثات بأنـــواعها، كمـــا يختلف ثبات الأغذية غير المحفوظة فيكون عرضـــة للـــتلوث بالميكـــروبات أو تنشط فيها الإنزيمات وتؤدى إلى تغير

خـــواص وصـــفات المادة الغذائية وتلفها، أو تتعرض المادة الغذائية لعوامل الأكسدة أو التزنخ.

ويقصد بتوكيد الجودة فى معامل تحليل الأغذية بأنها مجموعة المبادئ التـــى إذا مـــا اتبعت أثناء تجميع العينات وتحليلها سوف تعطى بيانات ذات جـــودة عالـــية. ولقد عرف Garfield عام ١٩٨٤ ضبط الجودة فى معامل تحليل الأغذية كنظام مخطط للأنشطة والذى يهدف إلى الحصول على نتائج تحليلية دقيقة.

ولقـــد أوضحت تقارير الـــ FAO عام ١٩٩١ مميزات برنامج توكيد الجودة فى المعامل على النحو التالى:

١- يعطـــى نظـــام توثيق للتأكد والتحقق من العينات ومراجعة أجهزة المعمل وأنها تعمل بكفاءة وبيانات التحليل معتمدة ودقيقة.
٢- توفير وقت وتكاليف التحليل على المدى الطويل.
٣- زيادة الثقة لدى القائم بالتحليل بأن النتائج المتحصل عليها موثوق بها ومعتمدة.
٤- التأكد من أن الأخطاء قد تم تحديدها وإزالتها.
٥- يعطى مرجعاً للأخطاء والشكاوى مما يؤدى إلى التحسين الداخلى المستمر.
٦- تحديد التدريب المطلوب للقائمين بالتحليل.
٧- زيادة المصداقية ودقة العمل.

على أن هناك تسهيلات معملية لبرنامج توكيد الجودة فى معامل تحليل الأغذية يمكن إيجازها فيما يلى:

١- تصميم المعمل.
٢- كفاءة الأشخاص العاملين بالمعمل.
٣- تحديد المهام والمسئوليات.

٤- مراقبة بيئة المعمل من حرارة – رطوبة – أتربة   إلخ.
٥- تدريب العاملين بالمعمل.
٦- أخذ العينات واستلامها.
٧- تحديد عينات التحليل المطلوبة.
٨- الأجهزة المعملية وكفاءتها.
٩- برنامج الصيانة والإصلاح المستمر.
١٠-أجهزة المعايرة – وبرنامج المعايرة المستمر.
١١-المحاليل والجواهر الكيميائية وكفاءتها ونقاوتها.
١٢-طرق التحليل المستخدمة من حيث:
اختيار الطريقة – المرجع الأساسى والرسمى للطريقة – الضوابط الإيجابية والسلبية للطريقة – تكرار التقديرات – تقدير الدقة والإتقان.
١٣-توثيق أعمال التحليل من حيث:
تقرير تجميع العينات – تقرير التحليل – سجلات الأجهزة – تقارير المعمل الدورية والفحص المفاجئ.
١٤-المراجعة الدورية الروتينية والعرضية للمعمل.

وعموما تقسم الجودة الكلية للغذاء إلى ثلاثة أنواع رئيسية هى:

١- جودة كمية Quantitative quality.
٢- جودة مستترة Invisible quality.
٣- جودة حسية Sensory quality.

وتشمل صفات الجودة المستترة عناصر القيمة الغذائية أو وجود مواد أو مركبات سامة لا يمكن تقديرها بصفة عامة بالتقييم الحسى مثل الفيتامينات والمبيدات الحشرية.

أما الجودة الكمية ترجع أهميتها إلى المنتج لتقدير كمية المادة المتحصل عليها من المادة الخام أى تقدير كمية المنتج الناتج من وحدة المادة الخام المستخدمة أو يرجع أهميتها إلى كل من المنتج والمستهلك مثل نسبة المكونات ذات القيمة الغذائية فى الغذاء المصنع.

وتفـيد الصفات الحسية للجودة فى إرشاد المستهلك فى اختيار نوعية الغذاء وهذه الصفات الحسية تقاس لتقدير:

١- مدى مطابقة الغذاء للمواصفات القياسية.

٢- تفضيل المستهلك لتصنيع منتج مقبول عن آخر.

ويتأثـر تقيـيم الخواص الحسية بالتقدير الشخصى والذى بدوره يتأثر بعدة عوامل نوجزها فيما يلى:

عـوامل دينية – ثقافية – فسيولوجية – الحالة البدنية العامة – نزوات الموضة – عوامل بيئية مثل التغير فى الطقس مثلا.

وتشمل الصفات الحسية ما يلى:

١- صفات المظهر من حيث اللون – الحجم – الشكل – القوام – مدى وجود عيوب من عدمه.

٢- صفات تركيبية تشمل تركيب المادة الغذائية – التماسك – اللزوجة

٣- صفات النكهة من حيث الطعم والرائحة.

والجدول رقم (١) يوضح عوامل الجودة وطرق قياسها.

أهمية الصفات المميزة للجودة

حـدد علمـاء تكنولوجيا الأغذية بصفة عامة بعض الصفات المميزة والتى تحدد درجة جودة الغذاء نتناولها بإيجاز فيما يلى:

١ – درجة الأمان للغذاء Food safety

وهـو تعبير يطلق على المنتج الغذائى للدلالة على خلو الغذاء من أى مـواد غيـر مرغوب فيها خاصة المواد الكيماوية ذات التأثيرات السامة أو تسبب الأمراض وتضر بصحة المستهلك.

جدول (١): عوامل الجودة فى الأغذية وطرق قياسها.

عوامل الجودة	طرق القياس
أولا: العوامل المظهرية	
١- الحجم ويشمل القطر والوزن	موازين، مناخل، ميكروميترات مثل الأدمة
٢- الشكل ويشمل الاستقامة ونسبة الطول إلى العرض	نسبة الإبعاد، إزاحة الماء بجسم مغمور
٣- الكمال أو التمام مثل القطع أو الأجزاء المكسورة أو المعطوبة	العد، الإحصاء، نسب السليم، صور، نماذج
٤- العيوب (نتوء، بقع، كدمات)	صور، رسوم، نماذج
٥- الصقل أو اللمعان	أجهزة قياس اللمعان
٦- اللون	كروت اللون، أجهزة قياس اللون
٧- التماسك (القوام والصلابة)	أجهزة قياس القوام، اللزوجة، الانتشار
ثانيا: عوامل تركيبية	
التركيب، المتانة، النوع، الصفة أو الخاصية، النعومة، العصارية، الألياف	أجهزة قياس الطراوة، التركيب والقوام، آلات ضغط وقطع، اختبارات رطوبة وألياف ومواد صلبة
ثالثا: عوامل النكهة	
الطعم والرائحة	الايدروميترات، الرفراكتوميرات، تقديرات السكريات وكلوريد الصوديوم، الإنزيمات، الأمينات، نسبة السكر إلى الحمض، المواد الطيارة، التحليل الكروماتوجرافى

٢- النقاوة للغذاء Food purity

وهـو اصطلاح يعنى خلو الغذاء من أى مواد غريبة حتى ولو كانت غيـر ضـارة مـثل بقايا القشور والبذور، مما يدل على عدم اتباع أصول الـنظافة أو الإنـتاج النظـيف وبالتالى يقلل من مدى قبول المستهلك للمنتج الغذائى.

٣- الصفات الحسية للغذاء Sensory properties

وهـى تلـك الخـواص المميزة للغذاء من لون وطعم ورائحة وقوام وملمس والتى يمكن إدراكها بالخواص الحسية.

٤- ملاءمة الغذاء للمستهلك Food convenience

وهـى تعنـى سـهولة حصـول المستهلك على متطلباته من السلعة أو المنـتج الغذائـي، سـواء بالشكل أو الحجم المرغوب وبطريقة الإعداد والتجهيـز المطلـوبة لـدى المسـتهلك، وهـذه الصفة من الصفات الملحة والمطلـوبة لـدى المسـتهلكين خاصة فى المجتمعات العاملة، حيث يركز المسـتهلك على منتج غذائى سهل الإعداد أو التحضير أو الاستهلاك توفيرا للوقت والجهد أو التخزين.

٥- فترة الصلاحية للغذاء Expiry date

ويقصـد بـذلك مدى قدرة المنتج الغذائى على البقاء محتفظا بصفات جودته المميزة ودرجة الأمان له وقيمته التغذوية خلال فترة التداول والتوزيع والتسـويق وأثـناء تواجده لدى المستهلك، ويعبر عن فترة الصلاحية بأنها الفترة الزمنية بين تاريخ الإنتاج وأقصى تاريخ للمحافظة على صفات الجودة فى المنتج تحت ظروف التداول والاستهلاك والتخزين المثلى.

٦- الخصائص الوظيفية Functional properties

وهى تلك الخواص والصفات التكنولوجية المميزة للمادة الغذائية خلال خطوات التصنيع والحفظ، وهى تشمل الإذابة – التشرب – امتصاص وربط

الماء – امتصاص وربط الزيت – اللزوجة – الاستحلاب – الرغوة – التأثيرات على القوام – التأثير على التركيب فى المادة الغذائية.

٧- القيمة التغذوية Nutritional value

وهى تعنى مدى احتواء المادة الغذائية على العناصر والمكونات الغذائية ذات الأهمية الحيوية للمستهلك، ومدى تأثير المعاملات التكنولوجية وطرق الحفظ والتخزين على هذه المكونات، وهى تشمل البروتينات – الدهون – السكريات – الألياف – الفيتامينات – الأملاح المعدنية.

ولقد زاد الاهتمام بوضع المواصفات القياسية بهدف تنظيم وتسهيل التجارة والتداول بين المنتج وكل من المستهلك والمستورد، وهذه المواصفات يتم إصدارها بواسطة هيئات حكومية مثل معهد المواصفات القياسية القومى الأمريكى ANSI / ASQC والكودكس Codex وهيئة المواصفات القياسية المصرية ESS ، وجدير بالذكر فإن المعايير أو المواصفات القياسية تكون مرتبطة مع سلامة الأجهزة.

والأيزو هو المنظمة العالمية للمواصفات القياسية (ISO) International standards organization وهو نظام ضمان جودة المنتجات والسلع الغذائية من خلال تطبيق مواصفات إدارة الجودة الشاملة ومواصفات توكيد الجودة، وهو نظام يعبر عن كل شيء تم إنجازه بالطريقة الصحيحة، وقد تم إعداد مواصفات الجودة ISO 9000 بواسطة اللجنة الفنية لتوكيد الجودة، وهى مجموعة خبراء من ٩٠ دولة، وتم إصدار هذه المواصفات عام ١٩٨٧، وتم إصدارها مطابقة للمواصفة البريطانية BS 5750 وبالتالى أطلق عليها المواصفة BS 5750 / ISO 9000، وفى عام ١٩٩٤ تم تعديل اسم المواصفة إلى BS / EN / ISO 9000 لإرجاعها إلى أصلها البريطانى [BS] وإضافة البعد الأوربى بها [EN]، ويعتبر الحصول على شهادة المطابقة مع المواصفات الدولية محورا لتطوير أوضاع الهيئات والوحدات الإنتاجية والخدمية، واستكمال متطلبات الجودة الشاملة وتفادى أسباب الخلل والانحراف عن الجودة مع بذل الجهد المستمر للمحافظة على المستويات المتفوقة للجودة.

وتشمل المواصفات الدولية المتعلقة بإدارة الجودة الشاملة الإصدارات التالية: ISO 9004 , ISO 9003 , ISO 9002 , ISO 9001.

أ - ISO 9001

وهــى المواصــفة الخاصة بنظم الجودة التى تغطى مجالات التصميم Design والتطويــر Development والإنــتاج Production والفحــص والاختــبار Inspection & Testing والتــركيب Installation والخدمة Serving.

وتنطــبق هذه المواصفة على الوحدات الإنتاجية التى تتعامل فى منتج ما منذ التصميم حتى التسليم للعميل وخدمة ما بعد البيع.

ب- ISO 9002

وهــذه المواصــفات تغطــى كــل المجــالات السابقة المذكورة فى ISO9001 فــيما عــدا التصميم والتطوير وخدمة ما بعد البيع وتنطبق هذه المواصــفة على الوحدات الإنتاجية التى تعمل فى الإنتاج، الفحص، الاختبار والتركيب فقط.

ج- ISO 9003

وتغطــى هــذه المواصــفة عملــيات الفحص النهائى والاختبار فقط، ولا تنطــبق هذه المواصفة إلا فى الحالات التى يمكن التأكد من الجودة فقط من خلال الفحص النهائى والاختبار وهى محدودة الاستخدام.

د - ISO 9004

وهذه المواصفة تتضمن عناصر التوجيهات والإرشادات Guidelines اللازمة لإدارة الجودة وبيان عناصر نظام الجودة.

ولقــد طــورت المــنظمة العالمــية للتوحــيد القياسى سلسلة الأيزو، وإصدارات مواصفات الأيزو ISO 14000 والخاصة بالمواصفات القياسية البيئية تتعامل مع تقييم المنتج وعمليات التصنيع وتحقق متطلبات المواصفات البيئــية Environmental Management system (EMS) ومــن هذه

المواصفات الأيزو ISO 14001، وتتلخص المتطلبات البيئية فى خمس نقاط هى:

١- السياسية والالتزام: وفى هذه المرحلة فإن المنظمة أو الوحدة الإنتاجية تعرف السياسية البيئية وتؤكد على اتباعها.
٢- التخطيط: وضع خطة لتغطية وتنفيذ السياسة البيئية.
٣- التنفيذ: وضع الخطة فى حيز التنفيذ بتوفير المصادر ودعم الإمكانيات.
٤- القياس والتقييم: قياس وتقييم الأداء البيئى فى مقابل الأهداف الموضوعة.
٥- المراجعة والتحسين: وذلك لكى يتحقق تحسين الأداء البيئى.

وفيما يلى نموذج لمشروع المواصفات القياسية الخاصة بتداول المواد المستخدمة فى تصنيع وحفظ الأغذية ومنتجاتها، حيث تتكون المواصفات القياسية الصادرة عن الهيئة المصرية للتوحيد القياسي من عدة بنود تشمل:

مجال المواصفة المشروعة – التعاريف الخاصة بالمادة أو المنتج الذى تتناوله المواصفة القياسية – الاشتراطات العامة المقررة – الاشتراطات والمواصفات الخاصة المقررة – اشتراطات ومواصفات التعبئة والبيانات المطلوبة – طرق الفحص والاختبار – المصطلحات الفنية التى تتناولها المواصفة الموضوعة – المراجع العلمية التى اعتمدت واستندت عليها المواصفة المقررة – الجهات التى اشتركت فى وضع وتقرير المواصفة.

والنموذج المعروض كمثال على المواصفات القياسية فى مجال تصنيع وحفظ الأغذية هو نموذج مشروع المواصفات القياسية لمادة نترات الصوديوم، ونموذج مشروع المواصفات القياسية لمادة نيتريت الصوديوم، وهى أمثلة للمواد الكيميائية المستخدمة فى تثبيت اللون فى منتجات اللحوم المعالجة.

مشروع المواصفات القياسية

لنترات الصوديوم

١- المجال

تخـتص هـذه المواصـفة القياسية بالاشتراطات العامة والمواصفات الخاصة بملح نترات الصوديوم المستخدم فى حفظ المنتجات الغذائية وكمادة مثبتة للون وطرق الفحص والاختبار.

٢- التعاريف

الاسم الكيميائى	: نترات الصوديوم.
الرمز الكيميائى	: ص ن أ٣.
المرادفات	: شيلى سولت بيترى صودا نيترا – كيوبيك.
الوزن الجزىء	: ٨٥
الرقم الكودى الكيميائى	: ٤٧٦٣١ – ٩٩ – ٤
الرقم الدولى	: ٢٥١

٣- الاشتراطات العامة

٣/١- يكون المنتج من الدرجة الغذائية.

٣/٢- يكون المنتج على هيئة بللورات شفافة عديمة اللون والرائحة أو حبيبات بيضاء اللون أو مسحوق.

٣/٣- يتميع المنتج فى الهواء الرطب.

٣/ ٤- يذوب المنتج فى الماء بسهولة، شحيح الذوبان فى الكحول.

٣/٥- يعطى المنتج نتيجة إيجابية لاختبار الصوديوم.

٣/٦- يعطى المنتج نتيجة إيجابية لاختبار النترات.

٤ – المواصفات

٤/١– لا تزيد نسبة النيتريتت على ٣٠ مليجرام / كجم.

٤/٢– لا يزيد الفقد فى التجفيف على درجة ١٠٥ س لمدة ٤ ساعات ٢ %.

٤/٣ – لا يزيد محتوى الزرنيخ على ٣ مليجرام / كجم.

٤/٤– لا يزيد محتوى الرصاص على ١٠ مليجرام / كجم.

٤/٥– لا يـــزيد محتوى المعادن الثقيلة مجمعة على ٢٠ مليجرام / كجم مقدرة كرصاص.

٤/٦– يجتاز المنتج اختبار الكلور الكلى بحيث لا تتعدى ٠,٢%.

٥ – التعبئة والبيانات

٥/١– يعبأ المنتج فى عبوات مناسبة محكمة الغلق تحافظ على خواصه ولا تتفاعل مع محتويات العبوة.

٥/٢– مع مراعاة ما ورد فى المواصفات القياسية المصرية رقم ١٥٤٩ الخاصة ببيانات بطاقات المنتجات الغذائية المعبأة ، تدون البيانات الآتـــية على العبوة باللغة العربية ويجوز كتابتها بلغات أجنبية إلى جانب اللغة العربية:

٥/٢/١– اسم المنتج أو المعبئ وعنوانه وعلامته التجارية إن وجدت

٥/٢/٢– الاسم العلمى والتجارى إن وجد.

٥/٢/٣– رقم التشغيلة أو الرقم الكودى.

٥/٢/٤– الوزن الصافى لمحتويات العبوة.

٥/٢/٥– درجة النقاوة وعبارة من الدرجة الغذائية.

٥/٢/٦– تاريخ الإنتاج وتاريخ انتهاء الصلاحية.

٥/٢/٧– شروط التخزين والتداول.

٥/٢/٨– عبارة صنع فى مصر فى حالة الإنتاج المحلى وبلد المنشأ فى حالة الاستيراد.

٦- طرق الفحص والاختبار

١/٦- اختبار الصوديوم:

جميع محاليل الصوديوم إذا تعرضت للهب غير مضى باستخدام سلك بلاتين نظيف يظهر لون مميز شديد الاصفرار.

٢/٦- اختبار النترات:

عند مزج محلول النترات مع حجم مماثل من حمض الكبريتيك ويبرد المحلول ويضاف محلول كبريتات الحديدوز فوق الخليط فإنه ينتج لون بنى عند السطح الفاصل بين المحلولين.

عند تسخين النترات مع حمض الكبريتيك فى وجود النحاس المعدنى فإنه تنطلق أبخرة حمراء بنية.

النترات لا تزيل لون محلول برمنجنات البوتاسيوم ٠,١ع وهذا يميزها عن النيتريت.

٣/٦- اختبار حد الزرنيخ:

يذاب ١ جم من العينة فى ١٠ مل حمض كبريتيك مخفف - يغلى ببطء لمدة دقيقة واحدة ثم يبرد ويخفف إلى ٣٥ مل بالماء.

يختبر هذا المحلول لحد الزرنيخ طبقا للطريقة العامة المذكورة فى المواصفات القياسية م.ق.م رقم (١٤٦٠) الخاصة بتقدير الزرنيخ فى الأغذية.

٤/٦- اختبار حد الرصاص:

يتم اختبار محلول العينة ١ جم فى ١٠ مل ماء طبقا لطريقة حد الرصاص مع استخدام ١٠ ميكروجرام أيون رصاص للمقارنة.

٥/٦- اختبار حد المعادن الثقيلة:

يذاب ١ جم من العينة فى ٢٥ مل ماء ويتم اختبار هذا المحلول لحد المعادن الثقيلة (الطريقة) باستخدام محلول للمقارنة يحتوى على ٢٠ ميكروجرام أيون رصاص (المحلول أ).

يختبر هذا المحلول لحد المعادن الثقيلة طبقا للطريقة الواردة فى المواصفات القياسية رقم الخاص بطرق فحص واختبار الألوان.

٦/٦- تقدير الكلور الكلى:

يـذاب واحد جرام من العينة في ١٠٠ مل ماء يضاف كمية كافية من حمض الكبريتوز ٦% حتى يعطى المحلول رائحة ثانى أكسيد الكبريت المميزة، يغلى المحلول بهدوء حتى تختفى رائحة ثانى أكسيد الكبريت ثم يضبط الحجم إلى ١٠٠ مل باستخدام الماء.

يضـاف ١ مل من محلول نترات الفضة ٠,١ع ثم ٣ مل من حمض النيتريك، ٣ مل من نيتروبنزين ويرج بشدة.

يضاف محلول كبريتات الحديديك النشادرية وتعاير الزيادة من نترات الفضة باستخدام محلول ثيوسيانات الأمونيوم ٠,١ ع.

لا يجـب أن تزيد الكمية المستهلكة من نتـرات الفضة ٠,١ ع على ٠,٦ مل.

٧/٦- تقدير النتريت:

يـتم التقديـر باسـتخدام جهاز سبكروفوتوميتر وذلك بعمل تفاعل بين النتـريت ومركب سلفانيل أميد، ن - (١ - نافثيل) ايثيلين داى أمين داى هـيدروكلوريد لـتكوين معقد له لون وردى يقاس الامتصاص له عند طول موجى ٥٤٠ نانوميتر.

١/٧/٦- الكواشف:

١- محلول سلفانيل أميد:

يـذاب ٢ جـم من سلفانيل أميد فى ١٠٠٠ مل حمض هيدروكلوريك مخفـف (محلـول اختبار ٢,٧ ع ١٠% وزن / حجم) - يحضر بتخفيف ٢٢٦ مل حمض هيدروكلوريك ٣٦% - يخفف بالماء ويكمل بالعلامة حتى ١٠٠٠ مل.

٢- دليل ن - (١ - نافتيل) - ايثلين داى أمين - داى هيدروكلوريد

يـذاب ٠,٢ جم من هذا الدليل فى الماء ويكمل الحجم إلى ١٠٠ مل. يحفظ فى الثلاجة فى زجاجة داكنة اللون.

٣- محلول النيتريت القياسى:

المحلـــول الأساسى: يذاب ٠,٧٥ جم من نيتريت الصوديوم (السابق تجفـــيفه فى مجفف يحتوى على سيلكاجل لمدة ٤ ساعات فى الماء ويكمل الحجم الى ١٠٠٠ مل (٥٠٠ ميكروجرام نيريت / ملليلتر).

المحلول الوسطى: يخفف ١٠ مل من المحلول السابق الى ١٠٠ مل بالماء ليعطى محلول يحوى على ٥٠ ميكروجرام نيريت / ملليلتر.

محلول العمل: يخفف ١٠ مل من المحلول الوسطي إلى ١٠٠٠ مل بالماء وهذا المحلول يحتوى على ٠,٥ ميكروجرام نيريت / ملليلتر.

٦/٧/٢- طريقة التقدير:

عمل المنحنى القياسى:

- ينقل بالماصة إلى دوارق معيارية سعة ١٠٠ مل أحجام صفر، ٥، ١٠، ٢٠، ٥٠ مل من محلول النيتريت القياسى (تمثل صفر، ٢، ٥، ١٠، ٢٠، ٥٠ ميكروجرام نيريت)، ويخفف بالماء إلى حوالى ٨٠ مل.
- يضـــاف إلـــى كل دورق ١٠ مل من محلول سلفانيل أميد ويمزج جيدا بعد ٣ دقائق يضاف ١ مل من دليل ن - (١ - نافتيل) - ايثيلـــين داى أمـــين - داى هـــيدروكلوريد ثم يكمل الدورق إلى العلامة بالماء ويمزج جيدا ويرك لمدة ١٥ دقيقة.
- يقـــاس امتصـــاص المحلول مقابل الماء على طول موجى ٥٤٠ نانوميتـــر وفـــى خلية ١٠ مل. ثم يتم رسم المنحنى القياسى من العلاقة بين الامتصاص وتركيز النيتريت.

اا قياس العينة:

- يوزن بدقة حوالى ١ جم من العينة وذلك لأقرب ٠,٠٠١ جم.
- يذاب الوزن فى الماء وتكمل إلى ١٠٠ مل.

- يـــنقل بماصة ٢٠ مل من المحلول إلى دورق معيارى سعة ١٠٠ مل ويكمل بالماء إلى حوالى ٨٠ مل – يضاف ١٠ مل من محلول سـلفانيل أميد ويمزج جيدا – بعد ٣ دقائق يضاف ١ مل من دليل ن– (١– نافتيل) – ايثيلين داى أمين – داى هيدروكلوريد ويكمل الحجم إلى العلامة باستخدام الماء ويمزج جيدا.
- يتــرك لمدة ١٥ دقيقة ثم يقاس الامتصاص مقابل الماء على طول موجى ٥٤٠ نانوميتر وفى خلية ١٠ مل. ثم يحسب كمية النيريت فى المحلول من المنحنى القياسى.
- تحسب كمية النيتريت فى العينة من المعادلة الآتية:

$$\text{نسبة النيتريت} = \frac{\text{أ} \times ٥}{\text{و}}$$

حيث:

أ = كمية النيتريت فى المحلول من المنحنى القياسى.

و = وزن العينة بالجرام.

٨/٦– تقدير النقاوة

- يـــوزن بدقة حوالى ٣٥٠ ملليجرام من العينة السابقة تجفيفها على درجة ١٠٥ س لمدة ٤ ساعات – تذاب العينة فى ١٠ مل حمض هـــيدروكلوريك فـــى كاس أو طبق بورسيلين صغير ويبخر حتى الجفاف على حمام بخار.
- يـــذاب المتبقـــى فـــى ١٠ مل حمض هيدروكلوريك وتعاد عملية التبخير حتى الجفاف.
- يســـتمر فـــى التســـخين حتى يصبح المتبقى عند إذابته فى الماء متعادلاً بالنسبة لعباد الشمس.
- ينقل المتبقى باستخدام ٢٥ مل ماء إلى دورق مزود بغطاء زجاجى.

- يضاف ٥٠ مل من محلول نترات الفضة ٠,١ ع ثم ٣ مل حمض نيتريك، ٣ مل نيتروبنزين ويرج بشدة.
- يضاف محلول كبريتات الحديديك الأمونية (يحضر بإذابة ٨ جم من كبريتات الحديديك الأمونية فى كمية من الماء لعمل ١٠٠ مل).
- يعاير الزيادة من محلول نترات الفضة باستخدام محلول ثيوسيانات الأمونـــيوم ٠,١ ع كـــل ١ مل من نترات الفضة ٠,١ ع يكافئ ٨,٥ مجم ص ن أ٣.

مشروع المواصفات القياسية
لنتريت الصوديوم

١- المجال

تختص هذه المواصفة القياسية بالاشتراطات العامة والمواصفات الخاصة بملح نتريت الصوديوم المستخدم فى حفظ المنتجات الغذائية وكمادة مثبتة للون وطرق الفحص والاختبار.

٢- التعاريف

الاسم الكيميائى	: نتريت الصوديوم
الرمز الكيميائى	: ص ن $أ_٢$
الوزن الجزىء	: ٦٩
الرقم الكودى الكيميائى	: ٧٦٣٢ – ٠٠ – ٠
الرقم الدولى	: ٢٥٠

٣- الاشتراطات العامة

٣/١- يكون المنتج من الدرجة الغذائية.

٣/٢- يكون المنتج على هيئة مسحوق أو حبيبات أو كتل مندمجة على شكل عصيان.

٣/٣- يمتص المنتج الماء وحبيباته متميعة.

٣ /٤- يذوب المنتج تماما فى الماء وبصعوبة فى الكحول الإيثيلى.

٣/٥- يعطى المنتج نتيجة إيجابية لاختبار الصوديوم.

٣/٦- يعطى المنتج نتيجة إيجابية لاختبار النتريت.

٣/٧- يكون المنتج ذا لون أبيض أو مائل للاصفرار.

٤- المواصفات

٤/١- لا تزيد نسبة النيتريت على ٣٠ مليجرام / كجم.

٤/٢- لا يــزيد الفقــد فـــى التجفــيف على ٠,٢٥% بعد تجفيفه فوق سيليكاجل لمدة ٤ ساعات.

٤/٣- لا يزيد محتوى الزرنيخ على ٣ مليجرام / كجم.

٤/٤- لا يزيد محتوى الرصاص على ١٠ مليجرام / كجم.

٤/٥- لا يزيد محتوى المعادن الثقيلة مجتمعة على ٢٠ مليجرام / كجم مقدرة كرصاص.

٥- التعبئة والبيانات

٥/١- يعبأ المنتج فى عبوات مناسبة محكمة الغلق تحافظ على خواصه ولا تتفاعل مع محتويات العبوة.

٥/٢- مع مراعاة ما ورد فى المواصفات القياسية المصرية رقم ١٥٤٩ الخاصـــة ببيانات بطاقات المنتجات الغذائية المعبأة تدون البيانات الآتية على العبوة باللغة العربية ويجوز كتابتها بلغات أجنبية إلى جانب اللغة العربية:

٥/٢/١- اســم المنـــتج أو المعبـــئ وعنوانه وعلامته التجارية إن وجدت.

٥/٢/٢- الاسم العلمي والتجارى إن وجد.

٥/٢/٣- رقم التشغيلة أو الرقم الكودى.

٥/٢/٤- الوزن الصافى لمحتويات العبوة.

٥/٢/٥- درجة النقاوة وعبارة من الدرجة الغذائية.

٥/٢/٦- تاريخ الإنتاج وتاريخ انتهاء الصلاحية.

٥/٢/٧- شروط التخزين والتداول.

٥/٢/٨- عبارة صنع فى مصر فى حالة الإنتاج المحلى وبلد المنشأ فى حالة الاستيراد.

٦- طرق الفحص والاختبار

٦/١- اختبار الصوديوم:

- جمـــيع محاليل الصوديوم إذا تعرضت للهب غير مضئ باستخدام سلك بلاتين نظيف يظهر لون مميز شديد الاصفرار.

٦/٢- اختبار النتريت:

- عند مزج محلول النترات مع حجم مماثل من حمض الكبريتيك ويبرد المحلول ويضاف محلول كبريتات الحديدوز فوق الخليط فإنه ينتج لون بنى عند السطح الفاصل بين المحلولين.
- عند تسخين النيترات مع حمض الكبريتيك فى وجود النحاس المعدنى فإنه تنطلق أبخرة حمراء بنية.
- النترات لا تزيل لون محلول برمنجنات البوتاسيوم ٠,١ ع وهذا يميزها عن النيتريت.

٦/٣- اختبار حد الزرنيخ:

- يذاب ١ جم من العينة فى ١٠ مل حمض كبريتيك مخفف - يغلى ببطء لمدة دقيقة واحدة ثم يبرد ويخفف الى ٣٥ مل بالماء.
- يختبر هذا المحلول لحد الزرنيخ طبقا للطريقة العامة المذكورة فى المواصفات القياسية م.ق.م رقم (١٤٦٠) الخاصة بتقدير الزرنيخ فى الأغذية.

٦/٤- اختبار حد الرصاص:

- يتم اختبار محلول العينة ١ جم فى ١٠ مل ماء طبقا لطريقة حد الرصاص مع استخدام ١٠ ميكروجرام أيون رصاص للمقارنة.

٦/٥- اختبار حد المعادن الثقيلة:

- يذاب ١ جم من العينة فى ٢٥ مل ماء ويتم اختبار هذا المحلول لحد المعادن الثقيلة (الطريقة) باستخدام محلول للمقارنة يحتوى على ٢٠ ميكروجرام أيون رصاص (المحلول أ).

- يختبر هذا المحلول لحد المعادن الثقيلة طبقا للطريقة الواردة فى المواصفات القياسية بالرقم الخاص بطرق فحص واختبار الألوان.

٦/٦- تقدير النقاوة:

- يوزن إلى أقرب ملليجرام واحد جرام من العينة السابق تجفيفها فوق سيلكاجل لمدة ٤ ساعات تنقل العينة إلى دورق عيارى سعة ١٠٠ مل وتذاب بالماء ثم تخفف إلى العلامة.
- ينقل باستخدام ماصة ١٠ مل من هذا المحلول إلى خليط يحتوى على ٥٠ مل من محلول برمنجنات البوتاسيوم ٠,١ ع، ١٠٠ مل ماء، ٥ مل من حمض كبريتيك (يجب حفظ طرف الماصة تحت سطح السائل تماما).
- يدفأ المحلول إلى درجة ٤٠° س ثم يترك لمدة ٥ دقائق.
- يضاف ٢٥ مل من محلول حمض أكساليك ٠,١ ع.
- يسخن الخليط إلى حوالى ٨٠° س ثم يعاير مقابل محلول برمنجانات البوتاسيوم ٠,١ ع.
- طريقة الحساب:

$$\text{النسبة المئوية لنتريت الصوديوم} = \frac{٢٥ - ل}{W} \times ٣,٤٥٠$$

حيث إن:

ل = عدد ملليليترات محلول برمنجنات البوتاسيوم ٠,١ ع التى استخدمت فى المعايرة.

W = الوزن بالجرام للعينة.

٧- المصطلحات الفنية

Sodium Nitrite	نتريت الصوديوم
Chemical formula	الرمز الكيميائى
Chemical name	الاسم الكيميائى
Formula weight	الوزن الجزىء
Colour fixative	مثبت للون
Hygroscopic	ماص للرطوبة
Deliquescent	حبيباته متميعة
Opaque	غير شفاف
Silica gel	سيلكاجل

استخدام نظام الـ HACCP فى مجال تصنيع الأغذية

إن التطور والتوسع فى استخدام المكونات والعناصر الغذائية المختلفة، وكـذا الطـرق التكنولوجية الحديثة لتصنيع المنتجات الغذائية ومواد التعبئة المسـتخدمة، قد أدى إلى زيادة مخاطر الأمان بالنسبة لمصنعى الأغذية مما دعا إلى تنظيم معاملات تصنيع الأغذية للتغلب على هذه المخاطر، ومن هنا ظهـر نظـام الـ Hazard Analysis Critical Control (HACCP) Points لمـنع حدوث المخاطر والأخطاء المحتمل حدوثها عند إنتاج المواد الغذائـية ولـيس للتفتـيش عليها، وبالتالى بمساعدة هذا النظام يمكن تحديد مصـادر الأخطـاء والأخطـار الفيزيقية والكيماوية والميكروبيولوجية، مع اختـيار وتنفيذ الطرق والوسائل المناسبة فى هذا المجال ووضع الحدود التى تحـدد القـبول أو الرفض للمنتج الغذائى، ومن هذا المنطلق فإن هذا النظام يهـدف إلـى إنتاج غذاء متميز بالجودة والسلامة، أى أن تطبيق هذا النظام يعتمد على أسلوب أين وكيف، بمعنى أين مصدر الخطر؟ وكيف يمكن تلافى ذلك بالمعالجة المناسبة ؟.

وممـا لا شك فيه أن الطرق التى استخدمت فى مصانع الأغذية عمدت إلـى التحكم فى درجة أمان وجودة المنتج الغذائى بالتدريب والفحص والبحث والدراسـة وأجـراء التقديـرات المختلفة، كما أن أغلب برامج مراقبة الجودة quality control وتأكيد الجودة quality assurance قد وظفت الربط بين هـذه الطرق المختلفة لتحقيق نفس الهدف، على أن الطرق التقليدية فى مجال مراقبة الجودة قد استعملت لتحقيق الأغراض المنوطة بها بالنسبة لجودة الغذاء والمنتج، ولكنها لم تؤكد على درجة الأمان Safety فى الأغذية المصنعة.

ولقـد بدأ تأريخ نظام الـ HACCP فى عام ١٩٥٩ عندما طلب من شـركة Pillsbury للمنـتجات الغذائية وضع برنامج لتطوير الأغذية التى تصـلح للاسـتخدام فى برامج الفضاء، وفى عام ١٩٧١ تم وضع نظام الـ HACCP عـندما انعقـد المؤتمـر القومـى لـوقاية الغـذاء National Conference of Food Protection، وفـى عـام ١٩٧٣ قامـت شركة

Pillsbury بـــتقديم مجـــالات الـــتدريب فى هذا الغرض، وفى عام ١٩٨٥ اقترحت هيئة National Academy of Science (NAS) استخدام نظام الـــ HACCP فـــى تقيـــيم المواصفات الميكروبيولوجية فى المواد الغذائية لـــوقاية الأغذيـــة، ثـــم تكون هيئة قومية لبحث هذا النظام وهى National Committee on Microbiological Criteria for Food Advisory (NACMCF) لتحســين نظم الاختبار ووضع الاصطلاحات والوصف لكل مبدأ من مبادئ هذا النظام وذلك لبناء الثقة فى المنتجات الغذائية بين الدول، والاقتـــراح بأن الأغذية المنتجة طبقا لهذا النظام هى أغذية آمنة. ومنذ عام ١٩٩١ أصـــبح نظام الـــ HACCP system (بعد إدخال التعديلات عليه) نظامـــاً مـــتكاملا يهـــتم ويـــؤكد علـــى المخاطـــر الفيـــزيقية والكـــيماوية والميكروبيولوجية.

ويهـــدف نظام الـــ HACCP إلى منع المشاكل والمخاطر المصاحبة لهـــا عـــند تجهيـــز وإعداد وإنتاج الأغذية المصنعة، ويعتمد ذلك على ثلاثة محاور أساسية هى:

١- تعـــريف وتحلـــيل المخاطر التى ظهر عند إنتاج الغذاء بدءا من الزراعة والحصاد والتداول والتجهيز إلخ.
٢- تقدير نقاط التحكم الحرجة لمصادر الخطر.
٣- وضع النظم المناسبة لتحليل نقاط التحكم الخطرة والحرجة.

وبنظـــرة عامـــة فإن نظام الـــ HACCP هو الضمان الحقيقى لإنتاج الجـــودة مـــن وجهـــة نظر صانعى ومستهلكى الأغذية، ولذا فهو يعتبر أعلى مرحلة من مراحل بناء ضمان الجودة وتأكيدها Quality Assurance (GA) فى أى شركة أو مصنع أو مؤسسة تعمل فى مجال التصنيع الغذائى.

ومـــن وجهـــة نظر الكودكس Codex فإن تحليل المخاطر عبارة عن عملية تتكون من ثلاثة محاور تشمل:

١- تقييم المخاطر Risk assessment.
٢- إدارة المخاطر Risk mangement.
٣- اتصالات المخاطر Risk Communication.

ويهــدف تقييم المخاطر إلى وضع الأسس العلمية والتى تشمل تعريف الخطة وتوضيحها وتقييم وتحليل التعرض للمخاطر، بينما أن إدارة المخاطر تشــمل رسم وتوجيه السياسات البديلة فى ضوء نتائج المخاطر، ولقد أوضح Rodricks عــام ١٩٩٦ أن تقيــيم المخاطر يختص بالسلامة الكلية للمنتج الغذائــى متضــمنا تحليل المنتج الغذائى من حيث المضافات الغذائية ومدى ســلامة الكــيماويات المضــافة والملــوثات وبقايا المبيدات وتقييم المخاطر البيولوجية، وتخص لجنة الخبراء التابعة لــ FAO / WHO بإجراء محاور الاتصــالات العلمــية وتقــديم التوصــيات التى تستخدم بواسطة الكودكس والحكــومات الإقليمــية وتقديم التوصيات الإرشادية فى هذا المجال. وجدير بالذكــر فــإن الحكــومات الإقليمــية مســئولة عن حماية المستهلك وكذلك الممارســات الــتجارية ومسئولية تأسيس التشريعات المرتبطة بجودة الغذاء وسلامته.

وقد أوضح Sperber عام ١٩٩١ المبادئ الأساسية لتطبيق نظام الــ HACCP والتى تتلخص فيما يلى:

١- إدارة تحلــيل المخاطــر Conducta hazard analysis وذلك بإعــداد قائمــة بخطــوات التصنيع موضحا بها مواقع المخاطر المعنوية مع وصف طرق المعالجة المناسبة.
٢- تعريف ووصف نقاط التحكم الحرجة (CCPs).
٣- وضــع الحدود الحرجة Critical Limits (CL) فى التقديرات والطرق الوقائية من هذه المخاطر.
٤- تسجيل النقاط الحرجة للتحكم.
٥- وضــع الإجراءات التصميمية والتى يجب أخذها فى الاعتبار مع ملاحظة أى انحرافات عن الحدود الحرجة التى تم تسجيلها.
٦- وضع الطرق المناسبة للمعالجة وتطبيق نظم الــ HACCP.
٧- وضع الطرق المختلفة لتحقيق Verification والتأكد من أن نظام الــ HACCP الموضوع قد تم تطبيقه بطريقة سليمة.

وعلى ذلك فإنه يجب وضع وتصميم خطة تسير عليها الوحدة الإنتاجية المنوط بها تطبيق النظام وهى ما تسمى بـ HACCP plant، ولقد أوضح Early عام ١٩٩٥ أنه يجب أن يكون الأفراد المختارون أو مجموعة العمل HACCP Team لديهم القدرة والخبرة التى تساعد فيما يلى:

١- المعرفة الجيدة بنظام الجودة فى الوحدة الإنتاجية.

٢- القدرة على التفرقة بين الأخطار المتصلة بالجودة وتلك الأخطار المتصلة بالأمان أو السلامة الغذائية.

٣- التعرف على الأخطار المهمة.

٤- تحديد نقاط السيطرة والمواصفات وطرق المتابعة.

٥- اختيار عمليات التصحيح عندما يكون هناك انحراف عن الحدود المطلوبة.

٦- عمل البحوث المتعلقة بتطبيق نظام الـ HACCP.

٧- قياس مدى نجاح خطة الـ HACCP.

ويتم تشكيل فريق العمل من: رئيس قسم الإنتاج – رئيس قسم تنمية وتحسين المنتجات – المسئول عن تطبيق نظم الجودة ISO – قسم البحوث وتطوير المنتجات – معمل مراقبة الجودة.

ويجب أن يقوم فريق العمل بوصف كامل تفصيلى عن المنتج الغذائى ووضع بما يسمى بقائمة المعايير أو المواصفات، ويشمل ذلك التركيب الكيماوى – خواص المنتج من درجة الحموضة والملوحة والشكل العام إلخ – عمليات الحفظ المتبعة من بسترة ومواد مضافة يصرح بها وسكر وملح إلخ – عمليات التعبئة وأسلوب التعبئة – التداول والتخزين – فترة الصلاحية والاستخدام وكيفية الاستخدام – معلومات عن مستهلكى المنتج الغذائى (أطفال – شيوخ – مرضى – عادى) القوانين المنظمة والمواصفات القياسية للمنتج.

كمـــا يقـــوم فريق العمل بوصف عمليات الإنتاج وذلك لكل خطوة من خطوات الإنتاج داخل الوحدة الإنتاجية وبطريقة مبسطة مع توضيح خطوات مـــا قـــبل الإنـــتاج، ثـــم اختبار صلاحية الرسم التوضيحى yerify flov diagram ويجـــب تعـــديل هـــذا الرســـم إذا لزم الأمر وتشمل نقاط اختبار الصلاحية ما يلى:

البـــرنامج الزمنى للتفتيش – مراجعة خطة الـــ HACCP – مراجعة الأخطـــاء والانحرافات – الملاحظة والمراقبة لبيان مدى السيطرة – جمع العينات العشوائية وتحليلها – مراجعة الحدود الحرجة – مراجعة السجلات والتعديلات التى تمت على خطة الـــ HACCP.

وتجـــدر الإشـــارة أن اختـــبار الصلاحية يجب أن يتم دوريا وبطريقة مفاجئة وفى الأوقات التى تتطلبها ظروف إنتاج معين.

ويجب أن يحتوى تقرير فريق العمل النقاط التالية:

١- أسس خطة العمل HACCP plan.
٢- وضع السجلات الخاصة بمراقبة نقاط التحكم الحرجة.
٣- عمليات المتابعة لنقاط ونتائج التحكم.
٤- الانحرافات والإجراءات التى تم وضعها للتصحيح.
٥- نتائج تحليل العينات والتعديلات التى تمت على الخطة.
٦- مستوى وتدريب القائمين بتنفيذ الخطة.

وتجـــدر الإشـــارة إلـــى النظـــر بعين الاعتبار والاهتمام بسجلات شكاوى المســـتهلكين عن المنتج الغذائى، والتى يجب أن تدرس بعناية تامة، لأنه من الممكـــن تحديـــد مصادر الأخطاء والمخاطر عن طريق هذه الشكاوى، كما يجـــب النظر الى هذه الشكاوى على أنها ذات أهمية وحيوية، وفى رأيى أن شـــكاوى المستهلكين تعتبر خدمات فنية مجانية تكشف عن الكثير سواء كان

ذلك سلبيا أو إيجابيا، مما يعد من المحاور الرئيسية فى دراسة وتحليل أسباب الأخطـــاء والعمـــل على التحسين المستمر لجودة المنتجات الغذائية وتحقيق رغبات المستهلك.

وفـــى تطبـــيق نظام الـــ HACCP يكون هناك نقاط تحكم أو مراقبة عاديـــة تسمى Control point (CP) وهى نقاط أو مراحل أو خطوات فى عملـيات الإنـــتاج يجـــب مـــراقبتها والتفتيش عليها من حين لآخر لضمان صـــلاحيتها، وفى حالة عدم وضع هذه النقاط تحت السيطرة فمن الممكن أن تؤدى إلى عدم مطابقة المنتج الغذائى لمواصفات الجودة، ولكنها لا تؤدى إلى أخطـــار ضارة بصحة المستهلك. ومن الأمثلة على ذلك لون المنتج – نسب المكـــونات أو العناصـــر الغذائـــية، وتسمى هذه النقاط بنقطة مراقبة الجودة Quality CP، كمـــا أن هناك نقاط مراقبة أشد خطورة تسمى نقاط مراقبة حـــرجة Critical control point (CCP)، وفى حالة عدم السيطرة على هذه النقاط فإنها بالإضافة إلى كونها تؤثر على جودة المنتج فإنها تؤدى إلى مخاطـــر لصحة المستهلك، وهذا ما يتعلق بالسلامة والأمان الغذائى Food safety، وهـــنا نوعان من النقاط الحرجة: النقطة الأولى CCP_1 وهى تعنى نقـــاط احتمال نشوء الخطر على صحة المستهلك، ولكن يمكن القضاء عليه بطرق التحكم والسيطرة والمراجعة. والنقطة الثانية هى CCP2 وهى تعنى نقـــاط احـــتمال نشـــوء الخطر بصحة المستهلك ولكن لا يمكن القضاء عليه نهائيا. ومن المصطلحات أيضا فى نظام الـــ HACCP هو الحدود الحرجة Critical limits (CL) وهـــى تلك الوسائل والنظم أو الحدود التى توضح الفرق بين ما هو مقبول وما هو غير مقبول أو مرفوض. ويمكن تحديد هذه الحـــدود الحـــرجة بتحديد العوامل الحرجة المتعلقة بذلك مثل درجة الحرارة المســـتخدمة – الحمـــض – نسب المواد الغريبة إلخ ٠ وإلى أى مستوى تؤثـــر هذه العوامل الحرجة فى تحديد مصادر الخطر أو تتحول إلى مصادر خطر.

وتتحدد مصادر المعلومات التى تساعد فى وضع الحدود الحرجة فيما يلى:

١- التجارب والأبحاث العلمية فى ذات المجال والنتائج المتحصل عليها سابقا مع الاستعانة بالمراجع العلمية.

٢- الخبرات المختلفة سواء من الموردين – مستشارى الوحدة الإنتاجية أو مستشارى الشركات الموردة للآلات والأجهزة الخاصة بالتصنيع والتحليل.

٣- القوانين المنظمة والمواصفات القياسية المحلية والدولية.

الإجراءات التصحيحية Corrective Actions عند تطبيق نظام الـ HACCP

تجدر الإشارة إلى أن أى انحراف أو خطأ فى نقاط التحكم الحرجة يؤدى الى حدوث أخطار أو احتمال حدوث ضرر للمستهلك، ولذا يجب وضع خطوات تصحيح مناسبة وبالسرعة المطلوبة لمنع حدوث المخاطر، ومن هذه الإجراءات أو التصرفات التصحيحية ما يلى:

١- يجب فى حالة الضرورة وقف الإنتاج.

٢- منع خروج المنتجات المشكوك فيها مع بحث الأمر.

٣- تحديد السبب الرئيسى للخطأ بكل دقة وتفصيل مع إجراء التعديل اللازم لمنع حدوث انحراف آخر.

٤- فحص المنتجات التى تم منعها من البيع.

٥- كتابة وتسجيل الخطأ تفصيليا وكذا الوسائل التى اتخذت للتصحيح.

٦- فى حالة الضرورة تعديل الـ HACCP plan وتطويرها وتحسينها.

٧- سرعة التصرف وحل المشكلة حتى يسير الإنتاج.

٨- دراسة السجلات أو الحوادث أو الأخطاء أو المشاكل السابقة واستخلاص النتائج والقرارات التى تمنع تكرار حدوث الخطر.

ومن الضرورى أن تكون مسئولية اتخاذ القرار واضحة وصريحة وتصدر من شخص له من السلطة وعلى قدر كبير من المسئولية وعلى علم واضح بالمشاكل وله دراية بنظم وأساليب نقاط التحكم الحرجة وطرق السيطرة عليها ويتسم بسرعة وقوة التصرف.

السجلات HACCP Records

يجب عمل سجلات تكون بمثابة الوسيلة الفعالة والمضمونة لمتابعة الإنتاج، ولكى تسهم فى تحديد متى وأين حدث الخطأ وما هى آخر الإجراءات التى اتخذت ومدى صحتها، وهل نظام الـ HACCP يعمل بكفاءة أم لا؟ وهذه السجلات تعتبر جزءاً من سجلات نظام الجودة ISO فى الشركة، ولكى تؤدى هذه السجلات دورها بكفاءة يجب أن تحتوى على كل المعلومات التى تساعد على القيام بما هو ضرورى مثل:

١- كتابة الانحرافات التى حدثت وماذا تم لتصحيحها أثناء عمليات الإنتاج.

٢- التسجيل بنظام متفق عليه مثل الرقم الكودى.

٣- كتابة اقتراحات الجهات المسئولة والقرارات النهائية التى تم اتخاذها وطريقة تعديل الخطأ.

وتتكون السجلات من سجلات خاصة بـ CCP وسجلات متعلقة بوضع وتحديد الحدود الحرجة وسجلات متعلقة بالانحرافات ووسائل التصحيح.

أنواع السجلات فى نظام الـ HACCP

١- سجلات خاصة بالحدود الحرجة Critical limits

ويوضـــح بهـــا الحدود العليا والدنيا الخاصة بالقياسات التى تتم أثناء مراحل الإنتاج وكذا الخطوات الواجب اتخاذها فى حالة تجاوز القياسات لأى من الحدود.

٢- سجلات نقط السيطرة الحرجة CCP records

وهذه يتم فيها تسجيل النقاط الحرجة وتحديد الأخطار وطرق ووسائل منع حدوثها أو تكرار الخطر وذلك سواء من المواد الخام الإضافات الكيماويات التعبئة والتخزين إلخ.

٣- سجلات خاصة بالانحرافات Deviations records

ويتم تسجيل أى انحراف أو تجاوز عن الحدود المطلوبة وكذلك أسباب عدم البقاء فى الحدود المسموح بها وكيفية تصحيح الانحراف وسببه.

٤- سجلات خاصة بالمراجعة Review necords

وفـــى هـــذا السجل يتم تسجيل مراجعة اليوم بالكامل وملخص عملية الإنـــتاج والانحرافات ومستوى هذه الانحرافات، هل هى طبيعية؟ وهل هى تحت السيطرة أم لا ؟ مع تحديد الاتجاه العام للمقياس ونقط السيطرة.

٥- سجلات خاصة بالخطة HACCP plan records

يـــتم فيها توضيح خطة نظم الـــ HACCP شاملا أسماء فريق العمل ومســـئولية كـــل فرد منهم ووصف النظام والهدف منه، مع رسم بيانى لكل عملية إنتاج موضحا عليه مواقع CCP وطرق التحكم والسيطرة والتعليمات الخاصة بالعمال أثناء مرحلة الإنتاج وطرق الاختبار.

التحقق من تطبيق النظام Verification of HACCP system

يجـــب اختـــبار الـــتحقق مـــن تطبيق النظام المتبع وإثبات أن الجودة المطلوبة متوفرة وأنه قد تمت عملية الإنتاج باتباع تعليمات نظام HACCP system ومن هذه الاختبارات ما يلى:

١- اختبار صلاحية سير النظام.

٢- اختبار صلاحية قواعد التعامل مع CCP المتفق عليها.

٣- اختبار صلاحية التعامل مع نقاط الانحراف والحدود الحرجة.

٤- اختبار صلاحية وسائل التصحيح المستخدمة فى حالة حدوث أخطاء.

٥- اختبار مطابقة المواد الخام للمواصفات.

٦- اختبارات معايرة أجهزة التحليل والقياس.

٧- اختبارات معاينة خطوط الإنتاج.

٨- كتابة التقارير اللازمة فى هذا الصدد.

٩- إجراء اختبار الصلاحية مرة واحدة سنويا على الأقل.

أهمية كيمياء تحليل الأغذية

١- يعتبر كيمياء تحليل الأغذية جزءاً من برامج توكيد الجودة فى تصنيع المنتجات الغذائية بدءا من المادة الخام مرورا بخطوط الإنتاج والتصنيع وحتى المنتج النهائى.

٢- تقوم كيمياء تحليل الأغذية بدور مهم فى تطوير المنتجات الغذائية الجديدة من حيث تقييم المعاملات التكنولوجية فى تصنيع المنتجات الغذائية.

٣- تعمل كيمياء تحليل الأغذية على كشف مصادر وأسباب مشاكل التصنيع الغذائى والعمل على وضع الحلول المناسبة لهذه المشاكل ومعالجتها.

٤- يهتم التحليل الغذائى بالتعرف على التركيب الكيميائى ونسب المكونات والعناصر الغذائية فى المنتجات.

٥- دراسة الخصائص المختلفة للمادة الغذائية وعلاقة ذلك بمعايير الجودة Quality atributes.

٦- تقدير وتحديد القيمة الغذائية والمعلومات الغذائية والفنية للمنتج.

٧- تقدير مدى مطابقة المنتج الغذائى للمواصفات القياسية.

٨- تحديد مدى صلاحية الغذاء للاستهلاك.

٩- تحديد درجة السلامة الغذائية.

١٠- دراسة وتحليل مانعات التغذية Antinutritional factors فى الأغذية.

١١- دراسة التركيب الدقيق للمنتج الغذائى Food microstructure بالطرق الحديثة وتحديد العلاقة بين تركيب الغذاء والتركيب الكيماوى ومدى تأثير ذلك على الجودة.

١٢- كشف وتحليل التلوث فى الأغذية سواء بالمبيدات الحشرية المختلفة ونسبها وكذا المواد المضافة، وهل هى فى الحدود المسموح بها والآمنة أم لا ؟.

١٣- كشف حالات غش الأغذية وتحديد نوعيتها ونسبة الغش فى المنتج.

١٤- تحديد درجة ثبات الأغذية أثناء التخزين Food storage stability لاختيار طريقة الحفظ المناسبة.

١٥- دراسة تأثير المعاملات التكنولوجية وظروف التخزين على خواص الجودة فى المنتجات الغذائية.

١٦- تفسير وتعليل التغيرات التى تحدث للأغذية ومنتجاتها سواء قبل التصنيع أو أثناءه أو بعده.

تحليل التركيب الكيماوى للأغذية Proximate chemical composition of foods

تتكون أى مادة غذائية من رطوبة moisture ومادة جافة drymatter تحتوى على المواد الصلبة Total solids سواء تلك القابلة للذوبان فى الماء أو غير قابلة للذوبان فيه وتشمل المادة الجافة كل من البروتينات Proteins – الدهون Fats – الكربوهيدرات Carbohydrates – المعادن والأملاح Minerals – الفيتامينات Vitamins – الألياف

Fibers – الإنـــزيمات Enzymes – الهـــرمونات Hormones – المواد السامة Toxic substances وتشكل هذه المواد الصلبة مع الرطوبة تركيبا إجمالـــيا مقداره ١٠٠% وتتباين نسب الرطوبة إلى المادة الصلبة، بل ونسب كـــل مـــن مكونات المواد الصلبة من مادة غذائية إلى أخرى، وتوجد طرق متعددة ومتخصصة لتحليل وتقدير هذه المكونات على حدة، ويعبـــر عن هذه المكـــونات بعـــدة أساليب، فقد يعبر عن تركيز أى مكون على أساس الوزن الرطب Wet base آخذا فى الاعتبار نسبة الرطوبة فى المادة الغذائية المراد تحلـــيلها، أو يعبـــر عنها على أساس الوزن الجاف Dry base وهذا أفضل كـــذلك، فإنـــه يعبـــر عن تركيز المكون كنسبة مئوية بالوزن أو الحجم أى جـــرام / ١٠٠ جرام عينة أو جرام / ١٠٠ مل (سم٣) عينة إذا كانت سائلة أو محلـــولاً، وفى حالة المكونات التى توجد بكميات ضئيلة فيتم التعبير عنها بالمليجرام (١٠$^{-٣}$) أو الميـــكروجرام (١٠$^{-٦}$ من الجرام) أو النانوجـــرام (١٠$^{-٩}$ مـــن الجرام) أو البيـــكوجرام (١٠$^{-١٢}$ من الجرام) وذلك كما فى حالـــة تقديـــر الفيتامينات ومتبقيات المبيدات والمواد الكيماوية الملوثة للمادة الغذائـــية وكـــذلك العناصـــر المعدنية والسموم الفطرية، وقد يتم التعبير عن بعـــض المكونات كجزء فى المليون Part permillion (PPM) وفى حالة الأحمـــاض الأمينـــية يـــتم التعبير عنها على أساس جم / ١٠٠ جرام عينة أو حجم / ١٦ جرام نيتروجين أو جرام / ١٠٠ جم بروتين.

والجـــدول رقـــم (٢، ٣) يوضـــح التركيب الكيماوى لبعض الأغذية الرئيسية معبرا عنها جرام / ١٠٠ جرام عينة.

جدول رقم (٢): التركيب الكيماوي في بعض الأغذية الشائعة الحيوانية

	Moist-ure	Prot-eins	Lipids	Carbo-hydra-tes	Mine-rals	Calo-ries
Meats, medium fat						
- beef, mutton	60	17	20	0.5	1.3	250
- pork	55	16	25	0.5	1.2	290
Meats, lean						
- horse	75	21	2	1.0	1.0	110
- fillet of beef	67	20	10	0.7	1.3	180
- chicken	70	21	8		1.4	150
Hens eggs	74	13	12	0.6	0.9	160
Fish, freshwater (carp)	78	18	2		1.4	100
Fish, marine, lean (cod)	80	17	2		1.6	90
Fish, marine, fatty (tuna)	60	26	13		16	220
Oysters	80	10	2	6.0		80
Offal						
-	70	20	4	3.0	1.7	120
-	78	10	9	2.0	1.5	130
Cooked meats						
- black pudding	30	28	41			480
- cooked ham	48	22	22			300
- salami	30	24	35			400
	87	4	4	4.8	0.8	68
Cheese						
- Camembert	55	20	23	1.0	0.9	310
- Gruyere	34	30	30	1.5	2.6	390

المصدر: ALAIS and LINDEN (1991)

جدول رقم (٣): التركيب الكيماوي في بعض الأغذية النباتية الشائعة

	Water	Prot-eins	Lipids	Carbo-hydrates (soluble)	Cellu-lose (fibres)	Mine-rals	Calo-ries
Fresh vegetables							
- lettuce	94	1.2	0.2	3	0.6	0.75	18
- tomato	93	1.0	0.3	4	0.6	0.60	22
- green beans	89	2.4	0.2	7	1.4	0.50	40
- peas	74	6.0	0.4	16	2.2	0.50	90
Dried vegetables							
- haricot beans	12	19.0	1.5	60	4.0	3.0	330
- soya beans	8	35.0	18.0	30	5.0	4.9	420
Cereal products							
- soft wheat	14	11.5	1.5	68	2.0	1.75	330
- flour (75% bran sifted)	12	9.5	1.2	75		0.60	350
- polished rice	12	7.5	1.7	77	0.2		350
- pasta,uncooked	8	13.0	1.4	76	0.4		375
- pasta, cooked	61	5.0	0.6	32	0.2		150
- white bread	35	7.0	0.8	55	0.3	2.3	255
Fresh fruits							
- cherry	80	1.2	0.5	17	0.3		77
- orange	87	1.0	0.2	9	0.8		44
- banana	75	1.4	0.5	20			90
- chestnut	52	4.0	2.6	40	2.0		200
Dried fruits							
- fig	27	4.0	1.0	62	3.5		275
- walnut	4	15.0	60.0	15			660
Fruit jam	30	0.5	0.1	70		0.2	280
Honey	20	0.5	0.2	76		0.3	300

المصدر: ALAIS and LINDEN (1991)

ويجب على القائم بعملية التحليل عند تسجيل النتائج تحديد الأساس الذى تم عليه حساب هذه النتائج وذكر الطرق التى استخدمها فى عمليات التحليل.

وجدير الذكر فإن اختيار الطرق المستخدمة فى تحليل الأغذية يعتمد على عدة عوامل يجب أخذها فى الاعتبار وتتلخص فيما يلى:

١- درجة الإتقان Precision

وهى تعنى مدى القدرة على إعطاء النتائج بأقل قدر من الخطأ أو الانحراف فى البيانات، التى يتحصل عليها الباحث أو مجموعة الباحثين عند استخدام نفس الطريقة أو الجهاز داخل المعمل الواحد وهو ما يعرف بدرجة الثقة فى نتائج التحليل المتحصل عليها.

٢- Reproducibility

وهى تعنى إمكانية إعطاء نفس النتائج إذا أجريت بواسطة مجموعة باحثين أو معامل مختلفة باستخدام نفس الطريقة.

٣- الدقة Accuracy

وهى مدى مقدرة الطريقة المستخدمة على تحليل وتقدير المكونات المراد تقديرها، ومدى التطابق بين متوسط نتائج المكون المقدرة فى العينة الغذائية والقيمة الفعلية لهذا المكون فى نفس العينة المراد تحليلها.

٤- بساطة الإجراء Simplicity of operation

وهى تعنى سهولة إجراء التقدير وبساطته بالنسبة لأى باحث أو قائم بالتحليل.

٥- السرعة Speed

هى تعنى الفترة الزمنية التى تستغرقها الطريقة لإجراء التقدير أو التحليل المطلوب، ويفضل الطرق التى تستلزم زمن أقل حتى يمكن تحليل أكبر قدر ممكن من العينات وهذا يفيد فى التحليل الروتينى.

٦- الحساسية Sensitivity

ويقصـــد بها مقدرة الطريقة المستخدمة فى التحليل على كشف وتقدير المكـونات خاصـــة عند وجودها بأقل مستوى أو تركيز فى العينة، كما هو الحـــال عند تقدير الفيتامينات أو الأنزيمات أو العناصر المعدنية أو المبيدات الحشرية والمواد الكيماوية والملوثات.

٧- التخصيص Specificity

ويقصد بها مدى مقدرة الطريقة على كشف وتقدير عناصر ومكونات محـــددة، بحـــيث تكــون الطـــريقة المستخدمة تختص بتحليل وتقدير مكون أو عنصر معين فى العينة.

٨- الأمان Safety

وهـــو يقصـــد أن اســـتخدام طريقة ما فى تحليل العينات لا يسبب أى ضرر للقائم بعملية التحليل عند إجراء خطوات الطريقة المراد اتباعها سواء من الجهاز أو من المحاليل والكيماويات المستخدمة.

٩- الاعتمادية أو الرسمية Official approval

ويقصد به أن الطريقة المستخدمة فى تحليل المكون أو العنصر المراد تقديـــره أو كشـــفه تكون طريقة رسمية معترف بها من الهيئات والمنظمات العلمـــية فى مجال التحليل، مثل هيئة المواصفات الدولية International Organization for standarization (ISO) أو الجمعـــية الكيميائـــية للتحلـــــيل Assocciation of Official Analytical Chemists (AOAC) ومعهد المواصفات البريطانية British Standards Institute (BSI).

١٠- الاقتصادية Economy

يجـــب أن تكون الطريقة أو الجهاز المراد استخدامه فى تحليل العينات تتوفـــر فـــيه الاشـــتراطات السابق ذكرها، وفى نفس الوقت يكون منخفض التكاليف حتى لا يؤدى إلى ارتفاع تكاليف التحليل المطلوب.

وعلى ذلك يجب عند اختيار طريقة معينة لتحليل أى مكون أو عنصر غذائى الأخذ بعين الاعتبار جميع العوامل السابق توضيحها مجتمعة، ويجب أن تكون جميع الأدوات الزجاجية والجواهر الكاشفة المستخدمة على درجة عالية من الدقة والنقاوة حتى يمكن الحصول على نتائج تتمتع بالثقة.

وهناك عدد من الاحتياطات والاعتبارات العامة الواجب مراعاتها عند إجراء أى تحليل للمكونات والعناصر المطلوب تقديرها أو كشفها، وذلك لتلافى مصادر الأخطاء فى التقدير المتحصل عليه، وتتلخص هذه الاعتبارات فيما يلى:

١- يجب استخدام أدوات التحليل مثل الماصات والسحاحات والدوارق المخروطية أو المعيارية والكاسات وغير ذلك، بالإضافة إلى الأجهزة المستخدمة فى التحليل أن تكون على درجة عالية من الجودة والدقة المطلوبة.

٢- يجب أن يكون تداول وتنظيف الأدوات والأجهزة المستخدمة بطريقة سليمة وآمنة، مما يمنع التلوث والتداخل فى التفاعلات والتقديرات المزمع إجراؤها.

٣- إجراء تجربة بلانك Blank فى كل تقدير أو تحليل وذلك بهدف:
   ١- التأكد من عدم حدوث تداخل فى النتائج المتحصل عليها.
   ٢- إزالة أى من مصادر الأخطاء فى التقدير.
   ٣- التأكد من نقاوة المحاليل والجواهر الكشافة.
   ٤- التأكد من مدى ضبط الأجهزة والأدوات المستخدمة.

ويقصد بالتجربة البلانك أنها تلك التجربة التى تجرى بنفس المحاليل والأدوات والأجهزة وتحت نفس الظروف، مع استبعاد وضع العينة كأحد عوامل إتمام التفاعل، ويجب استبعاد قيمة البلانك من قيمة التجربة الأساسية فى حالة وجود العينة، كما فى حالة تقدير البروتين بطريقة كلداهل باستخدام حمض البوريك، وتجدر الإشارة أنه فى بعض التجارب المعملية وفى التحليلات الكمية المرجعية فإن تجربة البلانك هنا تجرى بهدف حساب الكمية

الكليـة المسـتهلكة مـن الجوهـر الكشـاف، بحيث إذا طرح قيمة الزيادة مـن الجوهر الكشاف فى وجود العينة المراد تحليلها من قيمة البلانك، ينتج الكمية المستهلكـة من الجوهر الكشاف فى التفاعل مع المكون المراد تقديره فى العينة، وذلك كما فى حالة تقدير الرطوبة مثلا بالطرق الكيماوية بطريقة كـارل فيشـر Karl Feisher. وبالتالـى يمكن القول إنه فى مثل تجارب البلانك فى هذه الحالة فإن تجربة البلانك تجرى بهدف إزالة مصادر الأخطاء والـتأكد من نقاوة المحاليل المستخدمة، وفى نفس الوقت تقدير الكمية الكلية من الجوهر الكشاف المستخدم فى التحليل.

وفـى المعاملات التكنولوجية للأغذية ومنتجاتها فإنه عند دراسة تأثير عنصـر أو مكـون معـين أو مادة مضافة مثلا، فإنه يجرى عمل ما يسمى بالتجـربة المقارنة أو العينة المقارنة Control sample، وهى تعنى عمل عينة من المنتج المطلوب دراسته وبدون إضافات للعنصر أو المكون المراد التعـرف على تأثيره على هذا المنتج، وتستخدم هذه العينة مع باقى العينات الأخـرى تحـت الدراسـة والتى أضيف إليها العنصر أو المكون بالنسب المخـتلفة، ويجـرى تحليل العينة المقارنة والعينات الأخرى تحت الدراسة لاستنتاج الفروق بينها.

٤- يجـب عمـل تكرارات للتقديرات المطلوب إجراؤها لتلافى مصادر الأخطـاء والاختلافات فى العينة المأخوذة للتحليل، وللاستفادة من هذه التكرارات عند إجراء التحليل الإحصائى للنتائج المتحصل عليها.
٥- يجب قياس كفاءة الطريقة أو الجهاز المطلوب استخدامه لإجراء التقدير وهذا ما يسمى بالمعايرة Standarization لضبط عمليات وخطوات الإجراء قبل تنفيذ التحليل المطلوب.
٦- يجـب أن يكـون هناك مرجعية قياسية لنتائج التحليل المتحصل عليها سـواء بتحليل مواد غذائية قياسية (تعتبر كمرجع للمقارنة مع النتائج المتحصل عليها)، أو استخدام مواد قياسية تضاهى نتائجها تلك النتائج المتحصـل علـيها من إجراء الطريقة المتبعة فى التحليل، كما يمكن الـرجوع إلـى جـداول مـرجعية قياسية متى تم إعدادها تحت نفس الظروف الخاصة بالتقدير المطلوب.

عرض النتائج

يجـــب عـــرض نـــتائج التحليل بصورة واضحة ومصممة فى جداول أو أشـــكال يسهل معه الاطلاع عليها واستنتاج الصورة العامة لتحليل العينة المطلوبة، وبما يسهل استخراج اتجاهات واضحة فى التحليل نتيجة التغير فى التـــركيب الكـــيماوى أو الصـــفات الطبيعـــية أو نتـــيجة تأثيـــر المعاملات التكنولوجـــية، ويجب عمل تكرارات للتحليل المطلوب فى العينات بما يسهل إجراء التحليل الإحصائى لهذه النتائج، ويجب أن يتراوح عدد التكرارات بين ٣ – ٦ تكـــرارات، كما يجب مراعاة الدقة فى وضع العنوان المناسب سواء للجداول أو الأشكال البيانية بحيث أن يكون العنوان معبرا عن كل ما يحتويه الجدول أو الشكل البيانى.

أخذ العينات الغذائية Sampling:

تعتبــر عملية أخذ العينات الغذائية Sampling المراد تحليلها من أهم عملــيات وخطوات التحليل، ويجب على القائم بها مراعاتها بكل دقة وعناية بحــيث يــؤخذ العينة بطريقة صحيحة وسليمة وتكون ممثلة للمنتج الغذائى موضع الاختبار، وتجدر الإشارة إلى أن المنتجات الغذائية تتباين فى تركيبها بسبب تأثير عوامل عديدة تبعا للصنف والظروف البيئية والعمليات الزراعية والتخــزينية والــنقل والتداول. وينقسم عدم التجانس Hetero geneity فى الأغذية إلى عدم التجانس الماكرو Macro hetrogeneity وهذا يطلق على الاخــتلاف الموجــود بين وحدات الغذاء الكلى bulk، Lot، وعدم التجانس الميكرو Micro heterogeneity ومعناه الاختلاف داخل الأجزاء المختلفة للوحدات.

وجديــر بالذكر فإن المكونات أو العناصر الغذائية تتوزع بطريقة غير مــتماثلة داخــل الــوحدة الغذائــية، فيختلف تركيز عنصر ما فى الطبقات الخارجــية أو القشرة عن الاندوسبيرم أو على جانبى الوحدة الغذائية، ويؤدى هذا التوزيع غير المتماثل إلى الحصول على نتائج متباينة.

ولا بــد مــن توافــر شــروط أساســية عند أخذ عينة ممثلة للغذاء Reprsentative Sample وهى:

١- أن تكــون العينة ممثلة بطريقة عشوائية Random ليس فيها أى درجــة مــن التحيز أو ميل معين لأى من الاتجاهات فى تحديد موضع معين أو أسلوب محدد.

٢- أخذ كمية تكفى لعمليات التحليل المطلوبة وتزيد.

٣- الحــيلولة دون حدوث أى تغير فى تركيب أو خواص أو صفات العينة المسحوبة من لحظة سحب العينة حتى انتهاء تحليلها، حتى تكون نتائج التحليل معبرة عن الواقع وذات درجة كبيرة من الثقة والدقة مع انعدام درجة أو نسبة الخطأ فى النتائج المتحصل عليها.

والعيـنات الغذائـية المـراد سحبها إما تكون عينات لمنتجات غذائية طازجة، أو خام أو تكون عينات لمنتجات نصف مصنعة تؤخذ بهدف الحكم علـى كفـاءة عملـيات الإنتاج ومراحلها، أو تكون عينات لمنتجات غذائية مصنعة بعد انتهاء عمليات الإنتاج، أو عينات لمنتجات مستوردة أو مصدرة لتحلـيلها بقصـد الـرقابة. ويراد بطريقة سحب العينة تحديد تتابع خطوات أو مراحل معينة لأخذ عينة ممثلة للمنتج تمثيلا واقعيا، كما يعبر عن الرسائل الغذائـية بالأجـزاء المـتماثلة مـن المادة الغذائية الكلية، تسحـب بطريقة عشوائية، كذلك فإن وحدة العينة هى الحد الأدنى التى يجب أخذها من الغذاء موضـع الاختبار، ويطلق على كمية المادة الغذائية التى يتم أخذها من وحدة العينة بمقطع وحدة العينة.

وعلى ذلك فإن خطوات سحب العينة تتلخص فى التسلسل الآتى:

الغذاء الكلى ← رسالة غذائية ← وحدة العينة

Bluk or Lot ← Consignment ← Sample unit

↓

مقطع الوحدة

Increment

↓

العينة المصغرة ← عينة التحليل

Sub-sample ← Analysis sample

عوامل تحديد اختيار طريقة سحب العينات الغذائية

١- الغرض من الفحص

- هل تفحص العينة لبيان مدى القبول أو الرفض.
- هل تفحص العينة لتحديد وتقييم الجودة.
- هل تفحص العينة لتحديد درجة التجانس.

٢- طبيعة المادة الغذائية

الشكل الحجم إمكانية التقسيم إلى وحدات مصغرة تجانس أو عدم تجانس المادة الغذائية المعاملات التكنولوجية التى أجريت على العينة.

٣- طبيعة الاختبار أو طريقة أخذ العينة

- هل يؤثر لكل صفات وخواص العينة.
- الوقت اللازم لسحب العينة.
- التكلفة الفعلية.

النظام اليدوى لسحب العينات Manual Sampling

فى هذا النظام يتم سحب العينات بطريقة يدوية، بالنسبة للمواد المتجانسة ظاهريا كالسوائل ذات الوجه الواحد أو المساحيق جيدة للخلط فإنه يجب خلطها جيدا قبيل عملية سحب العينة، ويمكن إجراء عملية الخلط عن طريق تكرار صب العينة عدة مرات من إناء إلى آخر.

وبالنسبة للمساحيق والحبوب فإنه يمكن إجراء عملية المزج باستخدام مقسم العينات، حيث يتم وضع عينة الحبوب فى القادوس Hopper الموجود أعلى المقسم ثم يسمح للعينة بالنزول إلى جوانب مخروط يقع مباشرة أسفل مركز الفتحة، وتوجد حول قاعدة المخروط ثلاث فتحات، وتسقط الحبوب على جوانب المخروط فيتم تقسيمها وتتجمع فى النهاية فى اتجاهين رئيسيين يصب كل منهما فى آنية تجميع العينات.

وعامة فإن عملية سحب العينات بالنظام اليدوى تتطلب استخدام أدوات معينة يطلق عليها أدوات أخذ العينة Sampling Probes والتى يوضح بعضها فى الشكل رقم (١)، وهى أدوات رسمية ذات أشكال وأبعاد قياسية ثابتة وأهمها:

أ السارق Thief

السـارق عبارة عن أنبوبة عادية أو تلسكوبية يتراوح طولها بين ٦١، ٩١ سم وقطرها ٤,٤ سم، ويمكن مد الأنبوبة وهى مزودة بقاع كاذب يمكن فـتحه وإغلاقـه بحيث يسمح بالحصول على عينات مـن ارتفاعات مختلفة داخل عبوات كالبراميل، ويستخدم السارق فى سحب العينات السائلة.

ب- المحاول Trier

للمحاول أشكال مختلفة فقد يشبه الجاروف المزود بمقبض أو أن يكون علـى شـكل قلم (يسمى قلم أخذ العينات)، أو أن يكون مقسما لمنع سقوط العينة، ويستخدم المحاول فى سحب الغلال والمساحيق الجافة.

ج أنبوبة سحب العينات Sampling Tube

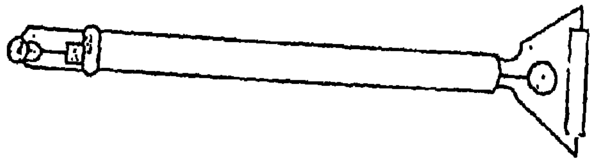
وهـذه الأنـبوبة إمـا أن تكون بسيطة أو مركبة، وتتكون الأخيرة من نصفى أسطوانة متداخلين، ويمكن فتح الأنبوبة وغلقها عن طرق مقبض. حيث توضع الأنبوبة داخل الغطاء الكلى وهى مغلقة، ثم يدار المقبض فتفتح الأنبوبة وتملأ بالعينة ثم تغلق وتسحب، وتستخدم أنبوبة أخذ العينات فى سحب الحبوب والبقوليات، وعادة يكون طول هذه الأنبوبة ٩١ سم بقطر ٣,٢سم.

د بريمة أخذ العينات Sampling Screw

يـتم اسـتخدام هذه البريمة فى سحب عينات البذور الزيتية مثل بذور القطـن وبذور فول الصويا، وتوجد بريمة خاصة لكل نوع من أنواع البذور حيث يختلف حجم ثقوب البريمة تبعا لحجم البذور.

هـ- سكين أخذ العينات Sampling Knife

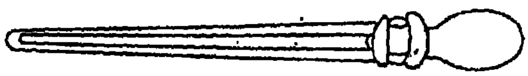
يسـتخدم هذا السكين فى أخذ عينات الأغذية المجمدة أو الجبن الجاف أو الأغذية نصف الصلبة، والسكين مصنع من الصلب غير القابل للصدأ.



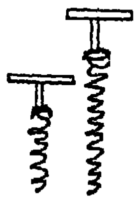
Thief السارق



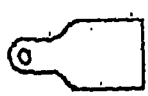
Trier الخارل



Sampling Tube أنبوبة سحب العينات



Sampling Screw بريمة أخذ العينات



Curer القاطع

شكل (١) : بعض أدوات أخذ العينة Sampling Probes

و آلة الحفر Drill

آلـــة الحفر عبارة عن مخروط من الصلب له نهايات مسننة، وتستخدم هـــذه الآلة فى أخذ عينات الأغذية المجمدة أو الجبن الجاف، حيث توضع آلة الحفــر علـــى سطح الغذاء المراد أخذ عينة منه وتدار البريمة فتحصل على مخروط من المادة الغذائية، وهناك طرق حديثة لأخذ العينات الصلبة بصورة مســتمرة وذلك عن طريق وضع آلة الحفر فى خط الإنتاج بحيث يتم تجميع العينة المركبة باستمرار.

وتجـــدر الإشـــارة إلى إمكانية استخدام المنشار الكهربى لأخذ عينات الأغذية المجمدة.

يمكـــن ســـحب العيـــنات عن طريق استخدام نظام ميكانيكى وبطريقة مستمرة، وتوجد ثلاث طرق رئيسية لذلك:

أ المجزئ الأخدودى Riffle Cutter.

ب- ساحب العينة الدائرى Circular (Vezin) Sampler.

ج- ساحب الخط المستقيم Straight Line Sampler.

بصـــفة عامة فإن عدد الوحدات units (n) التى يتم اختيارها من أى غذاء كلى (N) يمكن الحصول عليها بالمعادلة:

$$n = C\sqrt{N}$$

حيث:

C معامـــل يمثل درجة الدقة المرغوبة فى العينة، وتختلف قيمتها مع درجة عدم تجانس N.

وفـــى الواقـــع فإن حجم العينة يختلف تبعا للعلاقة بين n ودقة التحليل Precision والخطأ المسموح به. وفى عملية السحب العشوائى البسيط التى يتم فيها سحب الوحدات n من الغذاء الكلى N بحيث تكون فرصة سحب كل وحـــدة من وحدات n متكافئة مع فرص سحب وحدات n الأخرى، ويرتبط العـــدد n بدرجـــة الاخـــتلاف الموجـــود فـــى الناتج مقاسا بالحيود القياسى Standard Deviation (S) ودرجة الدقة Precision المطلوبة.

ويـــتوقف حجم العينة على مدى تباين الإنتاج وعلى الدقة المطلوبة فى النتائج، ومن الناحية العملية يجب الأخذ فى الاعتبار حجم التشغيلة الذى سيتم فحصــــه، وبالطـــبع فـــى حالة كبر حجم التشغيلة كما هو العادة فى الإنتاج الصـــناعى فـــإن العاملين الأولين (التباين والدقة) هما اللذان يحددان حجم العيـــنة، ويحـــتاج تحديد حجم العينة لكل منتج إلى وجود بيانات تجرى على إنـــتاج المصنع لمعرفة مدى تباين الإنتاج، وبفحص بعض البيانات المحددة التـــى أمكن توفيرها اتضح أن حجم عينة تكون ممثلة للإنتاج وكافية لإجراء الاختبارات اللازمة لتطبيق المواصفات يمكن أخذها طبقا للجدول الآتى:

عدد العلب فى التشغيلة	عدد العبوات (الكرتونات) التى تفتح	عدد العلب المختارة
إلى ٢٠٠	٣	٦
من ٢٠١ إلى ٣٠٠	٤	٨
من ٣٠١ إلى ٥٠٠	٥	١٠
من ٥٠١ إلى ٨٠٠	٦	١٢
من ٨٠١ إلى ١٣٠٠	٧	١٤
من ١٣٠١ إلى ٣٢٠٠	٨	١٦
أكثر من ٣٢٠١	١٠	٢٠

طريقة أخذ العينات من التشغيلة

نختار العبوات من التشغيلة بطريقة عشوائية منتظمة ويمكن الاستعانة بجداول الأرقام العشوائية لهذا الغرض، وإذا لم تكن هذه موجودة يمكن اتباع الطريقة التالية:

- يتم ترقيم العبوات (الكرتونات) بأرقام مسلسلة ١، ٢،٠٠٠٠ ،ن حيث ن هى حجم التشغيلة من العبوات (الكرتونات).
- يقســـم حجم التشغيلة ن إلى أقسام متساوية بحيث يكون عدد كل قســـم يســـاوى ر حـــيث ر = ن / ن١، ن١ = عـــدد العبوات (الكرتونات) المطلوب فى العينة حسب الجدول السابق (عمود٢) وتقرب إلى أقرب رقم صحيح.

- نختار الكرتونة الأولى فى العينة التى ترتيبها ر فى القسم الأول وباقى الكرتونات تؤخذ بانتظام بعد ذلك وعلى مسافات منتظمة من الكرتونة الأولى المختارة.
- فمـــثلا تكون الكرتونات المختارة للعينة هى التى يكون ترتيبها فـــى التشغيلة ر، ٢ر، ٣ر، ٤ر، وهكذا إلى أن يتم سحب جميع الكرتونات المحددة فى الجدول السابق فى العمود الثانى.

- مثال:

إذا كان لدينا ٥٠٠٠ كرتونة فى التشغيلة فيلاحظ من الجدول أن (عدد الكـــرتونات التـــى تم اختيارها من هذه التشغيلة هو ١٠ كرتونات) ولسحب هذه الكرتونات يتبع الآتى:

$$\text{تحدد ر} = \frac{٥٠٠٠}{١٠} = \text{٥٠٠ كرتونة}$$

لذلك تكون الكرتونات التى ستسحب هى التى تأخذ الأرقام التالية:

٥٠٠، ١٠٠٠، ١٥٠٠، ٢٠٠٠، ٢٥٠٠، ٣٠٠٠، ٣٥٠٠، ٤٠٠٠، ٤٥٠٠، ٥٠٠٠ .

ثـــم يتم فتح الكرتونات ويؤخذ من كل كرتونة بطريقة عشوائية وبذلك يكـــون عـــدد العلـــب المأخوذة ٢٠ علبة. كما تؤخذ أيضا ٨ علب للفحص البكترولوجى.

طريقة اختيار العلب من الكرتونات

يـــتم فتح كل كرتونة اختيرت فى العينة السابقة وتؤخذ من كل كرتونة عـــدد ٢ علبة بطريقة عشوائية وبذلك نحصل على عدد العلب المذكورة فى الجدول السابق فى العمود الثالث.

بالإضافة إلى العلب السابقة التى سيتم فحصها كيماويا نختار أيضا عدد ٨ علب بطريقة عشوائية من التشغيلة لإجراء الفحص البكتريولوجى.

عدد الزجاجات التى يتم اختيارها فى عينة المشروبات الكحولية يكون حسب الجدول التالى:

عدد الزجاجات فى التشغيلة	عدد الزجاجات التى تختار فى العينة
إلى ١٢٠٠	٩
من ١٢٠١ ٣٦٠٠	١٢
٣٦٠١ ١٠٨٠٠	١٥
أكثر من ١٠٨٠١	٢١

تختار الزجاجات المحددة فى الجدول السابق حسب الطريقة التالية:

أ يـــتم ترقيم الكرتونات بأرقم مسلسلة من ١، ٢ إلى ن حث ن عدد الكرتونات فى العينة.

ب- يتم تقسيم الأرقام المسلسلة إلى أقسام متساوية بحيث يكون فى كل قســم عــدد ر من الكرتونات (ر = ن / ن١، حيث ن١ عدد الزجاجات فى الجــدول الســابق عمود أ) ثم نختار من القسم الأول الكرتونة الأخيرة فى القســم أى تــرتيبها ر ويخــتار بأقــل الكرتونات على مسافات منتظمة من الكرتونة الأولى (طول المسافة ر).

- نختار من كل كرتونة زجاجة واحدة بطريقة عشوائية.
- يتم تقسيم الزجاجات المختارة إلى ثلاثة أقسام بطريقة عشوائية.

القسم الأول : يشمع ويحفظ لدى المنتج.

القسم الثانى : يحفظ لدى الجهة القائمة بأخذ العينة.

القسم الثالث : يرسل للتحليل.

المحتوى الرطوبى فى الأغذية
Food Moisture Content

تعتبر الرطوبة moisture أهم مكونات الأغذية ومنتجاتها، فهى المادة الأساسية لتركيب الخلية الحية، والوسط الذى يتم فيه التفاعلات الكيميائية والحيوية كما أنها وسط انتشار وانتقال المكونات والعناصر الغذائية ونواتج البناء والهدم فى الخلايا علاوة على أن الرطوبة تعتبر مذيبا لهذه المكونات ومن جهة أخرى تؤثر الرطوبة على خواص وتركيب المادة الغذائية، علاوة على أن الماء ضرورى لنمو الأحياء الدقيقة، وبالتالى تؤثر على قوة حفظ الغذاء، وبالتالى فإن إزالة الرطوبة من المادة الغذائية أو ارتباط للماء الحر بالعناصر الحيوية مثل الكربوهيدرات والبروتينات أو الأملاح يؤدى إلى وقف كثير من التفاعلات ويثبط نمو الكائنات الحية بما يؤدى إلى تحسين قوة حفظ المادة الغذائية.

وترتبط جزئيات الماء مع بعضها بواسطة روابط هيدروجينية الأمر الذى يؤدى إلى إعطاء خواص وصفات طبيعية مميزة للماء عن أى مكون آخر، وعلى سبيل المثال فإن جزىء الماء وزون الجزيئى ١٨ فى حين أن الوزن الجزيئى للاسيتون ٥٨، وبالنظر إلى نقطة غليان الماء نجد أنها أعلى من نقطة غليان الاسيتون بعكس نظرية الكتلة التى تعتمد على أنه تزداد نقطة الغليان بزيادة الوزن الجزيئى، إلا أنه نظرا لارتباط جزيئات الماء بالروابط الهيدروجينية تصل نقطة غليان الماء الى ١٠٠°م بينما تكون نقطة غليان الاسيتون (لا ترتبط جزيئاته بروابط هيدروجينية) هى ٦٠°م.

وجدير بالإشارة فإن للماء نقطة انصهار ونقطة غليان وحرارة تبخير مرتفعة عن معظم السوائل الشائعة التى تشابه الماء سواء فى احتوائها على نفس عدد الإلكترونات أو لأن لها خواص إذابة جيدة، ويرجع ذلك إلى وجود قوى تجاذب كبيرة بين جزيئات الماء والتى تعطى الماء السائل قوى تماسك كبيرة، ويمكن من الجدول رقم (٤) مقارنة خواص الماء بمثيلاته من السوائل الأخرى، ومن الجدول نلاحظ أن حرارة التبخير والتى تعتبر مقياساً مباشراً

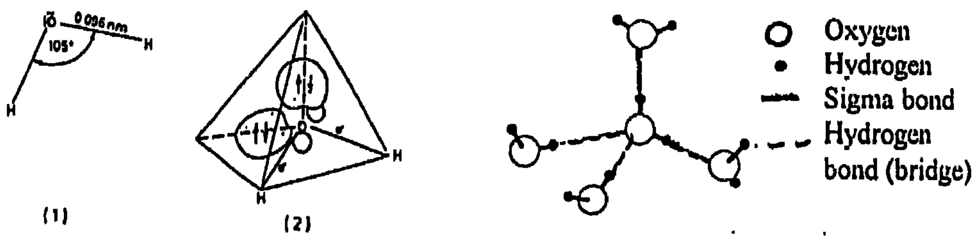
لكمية الطاقة اللازمة للتغلب على قوى التجاذب بين الجزيئات المتجاورة فى السائل وانفصالها ودخولها فى الحالة الغازية، تصل هذه الحرارة الى ٥٤٠ سعراً لكل جرام للماء فى حين أنها تصل إلى ٢٠٤ فى الايثانول والى ١٢٥ فى الاسيتون مثلا.

جدول (٤): بعض الخواص الفيزيقية للماء وبعض السوائل الشائعة

	نقطة الانصهار (°م)	نقطة الغليان (°م)	حرارة التبخير (سعر / جرام)	الثابت الكهربى ٢٠°م
الماء	صفر	١٠٠	٥٤٠	٨٠
ايثانول	١١٧ -	٧٨	٢٠٤	٢٤
اسيتون	٩٥ -	٦٠	١٢٥	٢١,٤
كلوروفورم	٦٣ -	٦١	٥٩	٥,١

وترجع قوى التجاذب بين جزيئات الماء فى الحالة السائلة إلى التوزيع الإلكترونى والبناء الفراغى لجزىء الماء، فنظرا لارتفاع كهروسالبية Electronegativity لذرة الأكسوجين فإنها تسحب الإلكترونات بعيدا عن ذرات الهيدروجين تاركة شحنة جزئية موجبة (δ +) على ذرات الأيدروجين كما هو موضح فى شكل رقم (٢)، ونتيجة لهذا الاستقطاب فإن جزىء الماء يصبح جزيئا كهربيا ثنائى القطب، ونتيجة لفصل الشحنات الكهربية على جزىء الماء فإن الجزيئات سوف تنجذب إلى بعضها البعض بواسطة القوى الكهروستاتيكية بحيث توجه ذرة الأكسوجين السالبة فى أحد الجزيئات فى اتجاه ذرة الأيدروجين الموجبة فى جزىء آخر، وهذا النوع من التجاذب الكهروستاتيكى يطلق عليه الرابطة الهيدروجينية كما فى الشكل، ونظرا للتوزيع الفراغى الخاص للإلكترونات حول ذرة الأكسوجين والذى يأخذ شكل الهرم الرباعى القاعدة فإنه من الناحية النظرية يكون لكل جزيئى ماء القدرة على تكوين أربع روابط هيدروجينية مع أربع جزيئات متجاورة، وبالتالى نجد عمليا أن الوزن الجزيئى للماء ليس ١٨ ولكن أكثر بكثير مما يفسر ارتفاع نقطة الغليان والانصهار للماء بالمقارنة بسوائل أخرى يكون

الــوزن الجزيئـــى لها كبيراً نسبيا بالنسبة لجزيئى الماء ولكن لا تتكون فيها روابط هيدروجينية، ولأن عدد الروابط الهيدروجينية فى جزئيات الماء كبير فإنها تمنح قوى تماسك داخلية كبيرة للماء السائل.



شكل (٣): التركيب البنائي لجـزيء المـاء والشـكل الـهرمي الربـاعي والروابـط الهيدروجينية بين جزيئات الماء .

ويعتبـر تقدير المحتوى الرطوبى من أهم التحليلات التى تجرى على المنتجات الغذائية، والمادة الجافة المتبقية بعد نزع الرطوبة من العينة الغذائية يعبر عنها بالمادة الصلبة الكلية Total Solids.

١- الـرطوبة تعتبـر عامل الجودة فى حفظ بعض المنتجات الغذائية وتؤثر علـى قـدرتها وثباتها التخزينى مثال الخضراوات والفاكهة المجففة الألبان المجففة مسحوق البيض التوابل

٢- تسـتخدم الـرطوبة كعامـل جـودة فى المربى والجيلى لتلافى تبلور السكريات.

٣- تــرتبط عملية إزالة الرطوبة (تجفيف المادة الغذائية) بعمليات التعبئة والشــحن، حيث يقل حجم المادة الغذائية ويسهل تعبئتها وتأخذ حيزاً أقل عند الشحن والنقل والتخزين وبالتالى تقل تكاليف هذه العمليات.

٤- يعتبــر المحتوى الرطوبى من المواصفات القياسية لبعض الأغذية مثال الجــبن التشدر يجب ألا تقل نسبة الرطوبة عن ٣٩% - الدقيق لا تقل نســبة الــرطوبة عن ١٥% - منتجات اللحوم المصنعة تحدد فيها نسبة الرطوبة المضافة.

٥- الرطوبة والمحتوى الرطوبى لهما أهمية فى المعاملات التجارية الدولية كما فى عمليات شراء الدقيق على أساس نسبة رطوبة محددة.

٦- معــرفة وتحديــد أســباب بعــض أنواع الفساد فى الأغذية. هل يرجع إلى سبب بكتيرى أو فطر أو خميرة لأن كل كائن حى من هذه الكائنات له مستوى معين من الرطوبة ينمو عنده.

٧- تحديد نسبة الغش فى الأغذية.

٨- معرفة مدى صلاحية المادة الغذائية للاستهلاك أو التصنيع أو التخزين.

٩- يــتطلب تقدير أو حساب القيمة الغذائية للمنتج معرفة المحتوى الرطوبى لهذا المنتج.

١٠- تســتخدم نــتائج الرطوبة للتعبير عن مكونات وعناصر المادة الغذائية على أساس الوزن الجاف Dry base.

ويوضــح الجــدول رقــم (٥) المحــتوى الرطوبى لبعض الأغذية ومنتجاتها.

جدول رقم (٥): المحتوى الرطوبى فى بعض الأغذية ومنتجاتها

Food Item	Approximate Poercent Moisture (wet weight basis)
Cereals, bread, and pasta	
Wheat flour	10.3
White bread, enriched	13.4
Corn flakes cereal	3.0
Crackers saltines	4.1
Macaroni, dry, enriched	10.2
Dairy products	
Milk, whole, fluid, 3.3% fat	88.0
Yogurt, plain, low fat	89.0
Cattage cheese	79.3
Ceddar cgeese	37.5
Ice cream, vanila	61.0
Fats and oils	
Margarine, regular, hard, corn	16.7
Butter, with salt	16.9
Oil-soybean, salad or c ooking	0.0
Fruits and vegetables	
Watermelon, raw	91.5
Oranges, raw	86.8
Apples, raw, with skin	83.9
Grapes, American type, raw	81.3
Raisins	15.4
Cucumbers, with peel, raw	96.0
Potatoes, raw, flesh and skin	79.0
Snap beans, green, raw	90.3
Meat, poultry, and fish	
Beef, ground, extra lean, raw	63.2
Chicken, broilers and fryers, light meat, meat and skin, raw	68.6
Finish, flatfish(flounder and sole species), raw	79.1
Egg, whole, raw, fresh	75.3
Nuts	
Walnuts, black, dried	4.4
Peanuts, all types, dry roasted with salt	1.6
Peanut butter, smooth style, with salt	1.2
Sweeteners	
Sugar, granulated	0.0
Sugar, brown	1.6
Honey, strained or extracted	17.1

المصدر: USDA (1997)

صور الماء فى الأغذية

يوجد الماء فى الأغذية على عدة صور أهمها:

٢- الماء الحر Free water

وهـو المـاء الـذى يوجد فى السيتوبلازم أو بين الخلايا كوسط إذابة أو لانتشار المكونات، ولهذا النوع من الماء جميع خواص الماء السائل وهو الذى يعتمد عليه فى تقدير المحتوى الرطوبى للمادة الغذائية.

٢- الماء الممتص Absorbed water

تتميـز بعض المكونات الغذائية ذات الوزن الجزيئى الكبير مثل النشا والجليكوجين البروتينات بالقدرة على امتصاص الماء على سطح جزيئاتها وتحتفظ به بقوى Vander waless.

٣- الماء المدمص Adsorbed water

وهـو صـورة مـن المـاء المرتبط مع البروتينات فى جدر الخلايا والبروتوبلازم ويوجد مدمص على الأسطح ويصعب التخلص منه.

٤- ماء التأدرت Hydration water

وهذا النوع من الماء يربط كيميائيا بجزيئى من مكونات المادة الغذائية ويصـبح جـزءا منها وهو لا يحتفظ بخواص الماء السائل الحر، أمثال ذلك المـاء المرتبط مع اللاكتوز مونوهيدرات Lactose monohydrate كذلك بعـض الأمـلاح مـثل كبريتات الصوديوم المائية Hydrated sodium sulfate

النشاط المائى وتحليل الأغذية

مـن المعروف أن ثبات الأغذية ومدى قابليتها للتلف يتأثر بالمحتوى الرطوبـى لهذه الأغذية، ولقد لوحظ أن الأغذية المختلفة والتى تحتوى على نفـس المحـتوى الرطوبى قد تختلف بدرجة ملحوظة فى مدى القابلية للتلف أو الفساد، وبالتالى فإن تقدير المحتوى الرطوبى للمادة الغذائية لا يعتبر دليلا

كافــيا يمكــن الاعــتماد علــيه فى تحليل درجة القابلية للتلف، ويرجع ذلك إلــى الاختلاف فى التركيب الكيماوى للغذاء ومدى إمكانية ارتباط الماء مع المكونات الأخرى، وإلى أى درجة تتمكن معها إيقاف النشاط غير المرغوب الذى يسبب فساد الغذاء. ولقد اتخذ اصطلاح النشاط المائى Water activity للتعبير عن مدى حدوث التغيرات المسببة لفساد الغذاء.

هــذا بالإضافة إلى أنه توجد عوامل أخرى تحدد درجة القابلية للفساد مــثل تركيــز الأكسوجين   رقم الــ pH   نوع المكونات المذابة   حركة الماء بالغذاء.

ويطلق على درجة النشاط المائى اصطلاح Water availability أى مقــياس الكمية المتاحة من الماء السائل بالغذاء ويمكن تعريف درجة النشاط المائى رياضيا بالصورة التالية:

$$\text{النشاط المائى } a_w = \frac{\text{الضغط الجزئى للماء فى المادة الغذائية (P)}}{\text{الضغط الجزئى للماء النقى عند نفس درجة الحرارة (Po)}}$$

$$= \frac{\text{قيمة اتزان الرطوبة النسبية للجو المحيط بالمادة الغذائية ERH}}{\text{١٠٠}}$$

ويوضح الجدول التالى رقم (٦) قيمة النشاط المائى (a_w) لبعض المنتجات الغذائــية. وتجدر الإشارة إلى أن التركيب الكيماوى للمادة الغذائية يؤثر بدرجة كبيــرة على هذه القيم، ذلك أن الأغذية البروتينية والنشوية تحتفظ بالماء بدرجة أكبــر من الليبيدات والمواد البللورية، كما أن الفاكهة المجففة المرتفعة فى نسبة السكريات تكون هيجروسكوبية عند مستوى aw أكثر من ٠,٣ .

جدول رقم (٦): درجة النشاط المائي في بعض المنتجات الغذائية

Fresh meat	0.99
Liver pate, ripe cheeses	0.95
Frankfurter sausages	0.93
Paris ham	0.91
Fresh cream cakes	0.89
Smoked pork	0.87
Jams	0.86
Dry sausage (28-34% moisture)	0.84
Condensed milk (sweetened)	0.83
Frozen foods	0.81
Concentrated fruit juices	0.79
Fruit cake	0.78
Honey	0.74
Dried meats (15-16% moisture)	0.72
Sugar syrups	0.70
Biscuits	0.69
Cereals	0.66
Dried fruits, ice creams	0.65

المصدر: ALAIS and LINDEN (1991)

وفـــى نفس الوقت فإن الخواص الطبيعية تعتبر أحد العوامل التى تؤثر علـــى ارتباط الماء حيث إن مساحيق السكروز ترتبط بالماء بدرجة أكبر من مثيلتها فى الصورة البللورية.

ومن جهة أخرى فإن المعاملات التكنولوجية تؤدى إلى اختلاف المواد الغذائـــية فـــى المحتوى الرطوبى، وعلى سبيل المثال فإن التسخين الابتدائى للنشويات يحسن الخواص الجيلية من خلال الامتصاص العالى للماء، كما أن التغيـــر فـــى قيمة الـــ pH والقوى الأيونية يسبب تغيرات فى شكل سلاسل البروتين أو المستوى المنخفض لاحتفاظ الماء عند رقم حموضة نقطة التعادل الكهربى.

بعـض المـواد المضافة للأغذية تغير من درجة النشاط المائى بدون تغييـر فـى المحتوى الرطوبى، وعلى ذلك فإن إضافة كلوريد الصوديوم السـكروز الجليسرول الروبيلين جليكول يخفض من قيمة الـ a_w وهذه المـواد المضـافة تستخدم فى الأغذية ذات المحتوى الرطوبى ١٥ ٣٥% ودرجـة نشـاط مائـى يتـراوح بين٠,٦ – ٠,٨ وتخزن لمدة طويلة مثل البسكويت، البلح وتكون هذه الأغذية ذات درجة ثبات تخزينى عالية.

من الأمور المهمة يجب التعرف على النشاط الحيوى للماء فى الأغذية حتـى يمكـن وقاية المنتجات الغذائية من التغيرات الطبيعية غير المرغوبة ومن الفساد الكيماوى والنشاط الإنزيمى والميكروبى.

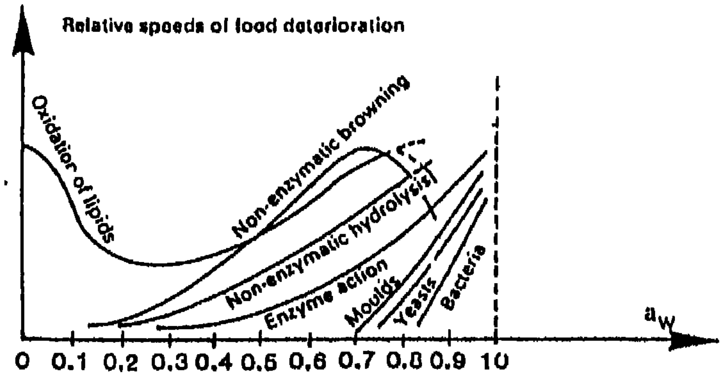
ويوضـح الشـكل رقـم (٣) علاقة النشاط المائى بفساد ومدى قابلية الأغذيـة للـتلف حيث إنه بالنسبة لتفاعلات الأكسدة توجد أربع صور لهذه التفاعلات طبقا لدرجة النشاط المائى،فعندما تكون قيمة a_w أقل من٠,١–٠,٢ يكـون عملية الأكسدة سريعة جدا حيث مرحلة البداية وتكوين الشقوق الحرة فـى الأحمـاض الدهنية غير المشبعة أو السلاسل الاليفاتية غير المشبعة تم ارتـباط الأكسوجين مع هذه الشقوق الحرة وتكوين البيروكسيدات ثم تكوين مركبات الكربونيل بعد مرحلة تكسير البيروكسيدات.

وبالتالـى تنطلق مركبات الرائحة المتطايرة وتتكسر الفيتامينات القابلة للذوبان فى الدهون وتنخفض درجة القابلية للذوبان والهضم للبروتينات.

وعـندما تكـون a_w بين٠,٢ – ٠,٥ فإن البيروكسيدات النشطة تكون منخفضة التركيز بسبب أن نسبة كبيرة منها ترتبط بالماء. وعندما تكون قيمة a_w أقـل مـن٠,٥ فإن العوامل المساعدة المعدنية نشر خلال عملية الأكسدة ويكون أكثر تأثيراً من تأثير المواد المضادة للأكسدة وبالتالى تستمر الأكسدة. وعندما تكون قيمة a_w أكبر من ٠,٩ تقل عملية الأكسدة.

وجديـر بالذكـر فإن تفاعلات التكثيف أو تفاعلات التلون البنى غير الإنزيمى non enzymic browning reaction والتى تسمى بتفاعلات مـيلارد فـإن سرعة التفاعلات تبلغ أقصاها عندما تكون قيمة a_w بين٠,٥– ٠,٧، على أنه عندما تكون القيمة بين٠,٦ – ٠,٧ تقل سرعة التفاعل كنتيجة

لمضـــاعفة المحتوى الرطوبى، كما أن الماء يثبط التفاعل عندما تكون قيمة الـــ a_w أكبر من ٠,٧٥ .



شكل (٣): العلاقة بين درجة النشاط المائي Water activity وسرعة الفساد في الأغذية

وبالنسبة للتفاعلات الإنزيمية فإن أغلب هذه التفاعلات لا يبدأ إذا كانت قـيمة a_w أكبـــر مـــن ٠,١ – ٠,٢ وجدير بالذكر فإن النشاط الإنزيمى يتبع النشـــاط المائـــى بسبب درجة الانتشار العالى للمواد المتفاعلة عند المستوى العالـــى مـــن المحـــتوى الرطوبـــى، كما أن هناك استثناء من ذلك بالنسبة لإنـــزيمات الليبيز Lipases والتى تكون نشطة عند المستوى المنخفض جدا مـــن المحتوى الرطوبى أو فى حالة عدم وجود رطوبة وعند درجة حرارة منخفضة جدا (درجة التجميد)، وتجدر الإشارة إلي أن التلامس بين الإنزيم والمادة المتفاعلة يمكن أن يحدث بدون وجود رطوبة.

وبالنســـبة للفســـاد الميكروبيولوجى فإن غالبية الكائنات الحية الدقيقة تكـــون الدرجة المثلى لنموها عندما تكون قيمة الـــ a_w بين ٠,٩٢ ٠,٩٩ وبالتالـــى فـــإن الأغذية المجففة ذات قيمة a_w بين ٠,٢ – ٠,٤ ينعدم النشاط الميكروبـــى فيها وكذلك فى الأغذية المضافة إليها ملح طعام أو السكر مثل

الجبن و المربى مثلا، و أقل مستوى من النشاط المائي يختلف تبعا لنوع الميكروب فهو تكون ٠,٩١ للبكتريا ٠,٨٨ للخمائر ٠,٨٠ للفطريات.

وتجدر الإشارة إلى أنه اعتمادا على نوع وصورة الماء الموجود بالمادة الغذائية ونسبته يتوقف اختيار الطريقة المناسبة لتقدير المحتوى الرطوبى لهذه المادة.

وتقسم الأغذية من حيث محتواها الرطوبى إلى ثلاثة أقسام هي:

١- اغذية مرتفعة في المحتوى الرطوبى **High moisture content**

مثل الخضر و الفاكهة الطازجة العصائر حيث تصل نسبة الرطوبة إلى ٨٠ ٩٠%.

٢- اغذية متوسطة المحتوى الرطوبى **Medium moisture content**

مثل اللحوم الأسماك الجبن الطرية حيث تصل نسبة الرطوبة إلى ٣٥ ٧٨%.

٣- اغذية منخفضة المحتوى الرطوبى **Low moisture content**

مثل الأغذية الجافة الدقيق الحبوب و التي تصل نسبة الرطوبة فيها بين ٤ ١٨%.

طرق تقدير الرطوبة في الأغذية

توجد عدة طرق لتقدير المحتوى الرطوبى في الأغذية ومنتجاتها ويتوقف اختيار الطريقة المناسبة على عدة عوامل يمكن إيجازها فيما يلي:

١- طبيعة وجود الماء في المادة الغذائية.
٢- طبيعة ونوع المادة الغذائية المراد تقدير الرطوبة بها.
٣- نسبة الرطوبة في المادة الغذائية.
٤- السرعة المراد الحصول بها على النتائج.
٥- مدى الدقة المطلوبة في التقدير.
٦- التكاليف و النواحي الاقتصادية.

فالمـــاء كما سبق ذكره يوجد على عدة صور والصورة التى يتم تقدير المحـــتوى الرطوبى فى المادة الغذائية هى صورة الماء الحر Free water وبالتالـــى يجب اختيار واتباع الطريقة التى لا تؤثر على باقى المكونات فى المادة الغذائية عند تقدير الرطوبة بها، وعلى هذا فإن طريقة الأفران العادية لاتصلح عند تقدير الرطوبة فى المنتجات التى ترتفع فيها نسبة الماء المرتبط مثل اللحوم والزبيب والتى يصلح معها طريقة الأفران تحت تفريغ Under vaccum. كـــذلك يجـــب مـــراعاة طبيعة ونوع المادة الغذائية المراد تقدير الرطوبة بها، فإذا كانت تحتوى على نسبة عالية من السكريات أو البروتينات مثلا يفضل استخدام طرق الأفران تحت تفريغ حتى لا تؤثر الحرارة العالية علـــى هذه المكونات، وإذا كانت المادة الغذائية تحتوى على مواد طيارة مثل الطباق المحتوى على نيكوتين فيستخدم المجففات الزجاجية Disscators.

كـــذلك فـــإن نسبة الرطوبة التقريبية فى المادة الغذائية لها تأثير على اختـــيار الطـــريقة المتبعة، حيث إن المواد الغذائية ذات المحتوى العالى من الـــرطوبة يصـــلح لهـــا طرق الأفران Ovens فى حين أن المواد الغذائية المنخفضـــة فـــى المحتوى الرطوبى مثل الحبوب التوابل يفضل لها طرق التقطير Distillation methods.

وطـــبقا للســـرعة المطلـــوب الحصول بها علي النتائج يمكن اختيار الطـــريقة المناســـبة، فهـــناك من الطرق التى لا تستغرق وقتا مثل الطرق الكهـــربية Electrical methods أو طريقة الأشعة تحت الحمراء Infra red method وهـــناك من الطرق التى تستلزم وقتا مثل الأفران Ovens، وهنا إذا كان تحليل العينات لعدد كبير وروتينى فإنه يفضل الطرق السريعة.

كـــذلك الحال بالنسبة للدقة المطلوبة فى النتيجة المتحصل عليها، فإذا كـــان التحلـــيل يجرى بطريقة تقريبية وروتينية فيمكن استخدام طريقة ذات درجـــة حساســـية أقـــل بحيث تعطى النتائج سريعة، بينما إذا كانت النتائج مطلـــوبة علـــى درجة عالية من الدقة فيجب اختيار الطريقة ذات المستوى العالى من الحساسية مع حساب النتائج لرابع رقم عشرى.

وتختلف الأجهزة المستخدمة فى تقدير المحتوى الرطوبى من حيث حاجتها فى درجة الحساسية ودقة النتائج وسرعة الأداء وسهولة الإجراء، وبالتالى تختلف هذه الأجهزة فيما بينها من تكاليف لذا يجب اختيار المناسبة مع الأخذ فى الاعتبار هذه العوامل بالإضافة إلى مراعاة الناحية الاقتصادية والتكلفة المتاحة.

وتجدر الإشارة إلى أنه يجب مراعاة هذه الاعتبارات السابقة عند اختيار الطريقة المناسبة لتقدير المحتوى الرطوبى فى المواد الغذائية المختلفة.

وتختلف طرق تقدير المحتوى الرطوبى فبعضها يعتمد على أساس حساب الفقد فى الوزن والذى يكون معبرا عن كمية الرطوبة التى كانت موجودة بالمادة الغذائية (طرق الأفران)، والبعض الآخر يقوم على أساس حجم الرطوبة المتكثف بعد فصله من العينة الغذائية (طرق التقطير). وهناك طرق تعتمد على استهلاك رطوبة المادة الغذائية فى تفاعل كيماوى معين (الطرق الكيماوية)، كما أن هناك طرقاً تعتمد على الاستفادة من الخواص الطبيعية للماء مثل نقطة التجميد والكثافة وغير ذلك

ويمكن تقسيم الطرق المستخدمة فى تقدير المحتوى الرطوبى للأغذية طبقا للأساس العلمى الذى بنى عليه طريقة التقدير إلى أربعة أقسام رئيسية هى:

١- طرق التجفيف	Drying methods
٢- طرق التقطير	Distillation methods
٣- الطريقة الكيماوية	Chemical methods
٤- الطرق الطبيعية	Physical methods

أولا: Drying methods

وتعـــتمد هذه الطرق على رفع درجة حرارة المادة الغذائية بما يؤدى إلــى خفــض كــثافة الماء وضعف الرابطة بين جزيئاته وانخفاض الضغط الــبخارى، وبالتالى يسهل تحوله من الصورة السائلة إلى الحالة الغازية ويتم فقده من سطح المادة الغذائية، ويؤخذ الفقد فى الوزن كأساس لتقدير المحتوى الرطوبى لتقدير فى العينة.

ويـــتوقف تقدير المحتوى الرطوبى فى هذه الطرق بدرجة كبيرة على نـــوع الفـــرن المستخدم درجة الحرارة زمن التجفيف عوامل تتعلق بوضـــع العيـــنة داخـــل الفرن درجة معدل التهوية وحركة الهواء داخل الفـــــرن مســـاحة سطح المادة الغذائية عدد العينات معدل التوصيل الحـــرارى الرطوبة النسبية داخل الفرن، كل هذه العوامل تؤثر على كفاءة نزع الرطوبة من المادة الغذائية باستخدام الأفران Ovens.

وكنتـــيجة لاســـتخدام الحرارة وعلاقتها بالزمن اللازم للتجفيف ونزع الرطوبة من العينة الغذائية فإنه إذا زادت درجة الحرارة أو الزمن اللازم عن الحد المقرر للطريقة ونوع الفرن المستخدم، يحدث هدم Decomposition لـــبعض مكونات المادة الغذائية وتتحلل بالحرارة ويتصاعد نتيجة ذلك بخار مـــاء (ليس مصدره الرطوبة الحرة Free water فى العينة)، ويتبع ذلك فقد فى وزن العينة ويحسب هذا الفقد على أنه فقد فى المحتوى الرطوبى، ويعتبر ذلك من مصادر الأخطاء فى النتائج المتحصل عليها، ومثال ذلك حدوث هدم لجزء من الكربوهيدرات وتحلله إلى ثانى أكسيد الكربون وبخار ماء.

وهـــناك مـــثال آخـــر لتأثير الحرارة نتيجة الاستخدام الخاطئ لطريقة التجفيف، حيث بعض المواد الغذائية التى تحتوى على مواد متطايرة فإن هذه المواد يحدث لها فقد ويحسب هذا الفقد على أنه فقد رطوبى وهو ليس كذلك.

وتقسم طرق التجفيف الى:

طرق تجفيف تحت الضغط الجوى العادى

وهـــذه الطرق تستخدم الأفران العادية Ovens أو المجففات الزجاجية Dissicators.

ومـــن الأفـــران التى تستخدم فرن Forced draft oven حيث تصل درجـــة الحرارة إلى ١٣٠م لمدة ٦٥ دقيقة كذلك فرن Carter Simon oven الذى تصل درجة الحرارة فيه إلى ١٥٥م لمدة ١٥ ق وفرن Chopin الـــذى تصل درجة الحرارة فيه الى ٢٠٠م وفيه يمرر بخار الماء المتصاعد على مادة كربيد الكالسيوم ويتكون غاز الأستيلين الذى يلتهب فى قمة الفرن حتـــى انتهاء تبخير الرطوبة من العينة مما يدل على انتهاء التقدير. ويحسب الفقد فى الوزن كأساس لتقدير المحتوى الرطوبى بالعينة.

ب- طرق تجفيف تحت تفريغ

. وهـــذه الطـــرق تســـتخدم الأفـــران تحت تفريغ Vaccum ovens والمجففات الزجاجية تحت تفريغ Vaccum dissicators.

وفـــى هذه الطرق يتم التجفيف على درجة حرارة منخفضة باستخدام ضغط منخفض (٢٥   ١٠٠مم زئبق) حيث يتم نزع الرطوبة خلال ٣-٦ ســـاعات وتصلح هذه الطرق لتقدير المحتوى الرطوبى فى المنتجات الغذائية ذات المحـــتوى المرتفع من البروتينات والكربوهيدرات والدهون وكذا المواد الغذائية المحتوية على مواد طيارة.

ج   طرق تجفيف تعتمد على استخدام الإشعاع الحرارى

وهذه الطرق يستخدم فيها أفران الأشعة تحت الحمـــراء Infra red ovens، وأفران الميكروويف Micro wave ovens.

وتعتمد هذه الطرق على نفاذية الحرارة إلى داخل المادة الغذائية حتى الجفاف كما أنها تتميز بتقليل الوقت اللازم للتقدير إلى ١٠   ٢٥ دقيقة ولذا فهـــى تصلح للتحاليل الروتينية التى تتطلب سرعة التقدير، هذا بالإضافة إلى

أن هــذه الأفران مزودة بميزان حساس، ويجب مراعاة المسافة بين مصدر الأشــعة تحت الحمراء وبين المادة الغذائية المراد تجفيفها كذلك سمك المادة الغذائية مع ملاحظة عدم حرق العينة خلال الإجراء.

ويمكــن حساب النسبة المئوية للرطوبة والنسبة المئوية للمواد الصلبة فى العينات الغذائية باستخدام طرق التجفيف بالأفران كما يلى:

% الرطوبة (وزنية   وزنية) = (وزن الرطوبة فى العينة) / (وزن العينة الطازجة) × ١٠٠

= (وزن العينة الرطب   وزن العينة جافة) / (وزن العينة الرطب) × ١٠٠

% للمواد الصلبة الكلية = (وزن المادة الجافة بعد التجفيف) / (وزن العينة رطبة) × ١٠٠

ثانيا: طرق التقطير Distillation methods

وفــى هــذه الطرق تخلط المادة الغذائية بمذيب عضوى درجة غليانه أعلى من درجة غليان الماء مثل التولوين ١١٠,٦م أو الزيلين ١٣٧   ١٤٠ م أو التتراكلوروايثيلين ١٢١م ويفضل استخدام الأخير نظرا لعدم تأثيره على العينة كما أنه غير قابل للاشتعال.

ويعتبــر المــذيب فى هذه الطريقة وسط تسخين غير مباشر وبالتالى لايؤثر على صفات المادة الغذائية.

وتعــتمد الطــريقة علــى تســخين مخلوط المادة الغذائية مع المذيب العضــوى فــى دورق التقطير، فعندما تصل درجة الحرارة إلى نقطة غليان المــاء (١٠٠م) تتبخر الرطوبة أولا من المادة الغذائية وتتصاعد إلى المكثف ويــتم تجميع المتقطر فى القابلة المدرجة بالجهاز، ويدل عدم زيادة المتقطر فى القابلة على انتهاء التقدير.

وتتميز الطريقة بأنها مباشرة يمكن ملاحظة إجرائها سريعة لا تأخذ وقت سهلة الإجراء دقيقة غير مكلفة.

وتصلح هذه الطريقة لتقدير المحتوى الرطوبى للحبوب والأغذية المجففة ومن أشهر الأجهزة المستخدمة فى ذلك المجال جهاز :

Bidwell sterling moisture trap

كما توجد عدة صعوبات عند تقدير الرطوبة بطرق التقطير وهى عدم دقة التدريج للقابلة تكون مستحلب من الماء والمذيب يؤدى إلى عدم تقطير كل الرطوبة تكثيف قطرات الماء على الجدران كل هذا يؤدى إلى عدم دقة نتائج الرطوبة المتحصل عليها ولذا يجب الأخذ فى الاعتبار ذلك والعمل على تلافى حدوثه.

ويمكن حساب نسبة الرطوبة كما يلي:

$$\% \text{ للرطوبة} = \frac{\text{حجم الماء المتقطر}}{\text{وزن العينة رطبة}} \times ١٠٠$$

ثالثا: الطرق الكيماوية Chemical methods

تعتمد هذه الطرق على استهلاك رطوبة المادة الغذائية فى تفاعلات كيميائية خاصة مع بعض المواد الكيميائية، ومن تقدير وحسابات نواتج التفاعل يمكن تقدير كمية الرطوبة الداخلة فى التفاعل وهى فى نفس الوقت تعبر عن كمية المحتوى الرطوبى بالعينة الغذائية، وبالتالى يمكن حساب النسبة المئوية للرطوبة فى المادة الغذائية.

ويمكن تقسيم هذه التفاعلات إلى:

أ تفاعلات أكسدة واختزال Oxidation reduction reaction

ويمثلها طريقة كارل فيشر Karl fischer وهذا التفاعل يعتمد على استهلاك رطوبة المادة الغذائية فى تفاعل أكسدة واختزال مع اليود، حيث يختزل مول واحد من اليود بواسطة مول واحد من ثانى أكسيد الكبريت فى وجود مول

واحـــد مـــن الـــرطوبة، ولقد تطور إجراء الطريقة باستخدام كحول ميثانول وبيـــريدين لإذابة اليود وغاز ثانى أكسيد الكبريت، ويسمى المحلول بمحلول فيشر Fischer solution.

وعمليا يستخدم محلول الميثانول الذى يحتوى على اليود وثانى أكسيد الكبريت ولابيريدين بنسبة ١: ٣: ١٠.

وفى هذه الطريقة يضاف إلى وزنة معينة من العينة الغذائية حجم من محلـــول فيشـــر يكفـــى للتفاعل وزيادة ثم يتم تقدير الزائد من محلول فيشر (أى يـــتم تقدير كمية اليود الزائدة) وذلك بالمعادلة مع محلول ثيوكبريتات صـــوديوم معلـــوم العـــيارية فى وجود يوديد بوتاسيوم وباستخدام دليل نشا (تفاعل يودى) وتجرى تجربة بلانك لتقدير كمية اليود الكلى بمحلول فيشر حـــيث يوضع حجم مساو لحجم محلول فيشر فى تجربة العينة ثم يقدر اليود الكلـــى بواسطة ثيوكبريتات الصوديوم ويكون حجم الثيوكبريتات الصوديوم فـــى تجربة العينة هو (ح٢) وفى تجربة البلانك هو (ح١) والفرق بينهما ينتج حجـــم الـــيود المستهلك فى التفاعل مع رطوبة العينة الغذائية (ح١ ح٢) وتقدر النسبة المئوية للرطوبة فى العينة كما يلى:

حساب عدد مكافئات اليود المستهلك = (ح١ ح٢) × ع × ١٢٧ / ١٠٠٠ = س

حيث ع هى عيارية محلول الثيوكبريتات الصوديوم

ومن معادلة التفاعل الكيمائى نجد أن:

كل مول يود يستهلك مول رطوبة.

أى أن ١٢٧ × ٢ جرام يود يستهلك ١٨ جرام ماء

∴ س جرام يود يستهلك ص جرام ماء

∴ كمية الرطوبة بالعينة (ص) = س × ١٨ / ١٢٧ × ٢

$$= \frac{(\text{ح١} \quad \text{ح٢}) \times \text{ع} \times ١٢٧ \times ١٨}{٢ \times ١٢٧ \times ١٠٠٠} = \text{ل جرام}$$

$$\therefore \text{\% للرطوبة بالعينة} = \frac{\text{ل}}{\text{وزن العينة رطبة}} \times ١٠٠$$

$$C_5H_5NI_2 + C_5H_5NSO_2 + C_5H_5N + H_2O \rightarrow C_5H_5NHI + C_5H_5NSO_3$$

$$C_5H_5NSO_3 + CH_3OH \rightarrow C_5H_5N\,(H)\,SO_4.\,CH_3$$

وتصلح طريقة كارل فيشر لتقدير المحتوى الرطوبى فى الأغذية التى تعطى نتائج غير دقيقة عند تقدير الرطوبة بها باستخدام الحرارة (الأفران) كمـــا أنها تصلح فى الأغذية المنخفضة الرطوبة مثل الخضراوات والفاكهة المجففـــة الشـــيكولاته الحلـــوى الزيوت والدهون الأغذية المجففة الرطوبة ومرتفعة فى البروتينات أو الكربوهيدرات الشموع.

وتمـــتاز طرقة كارل فيشر بأنها سريعة نسبيا حساسة لا تستخدم حرارة عند الإجراء.

ويجـــب مراعاة الآتى عند استخدام طريقة كارل فيشر لتقدير المحتوى الرطوبى لتلافى مصادر الأخطاء التى تؤثر على دقة النتائج:

١- يجـــب طحـــن العينة الغذائية (خاصة الحبوب) طحنا جيدا حتى يمكن التأكد من تمام استخلاص الرطوبة منها.

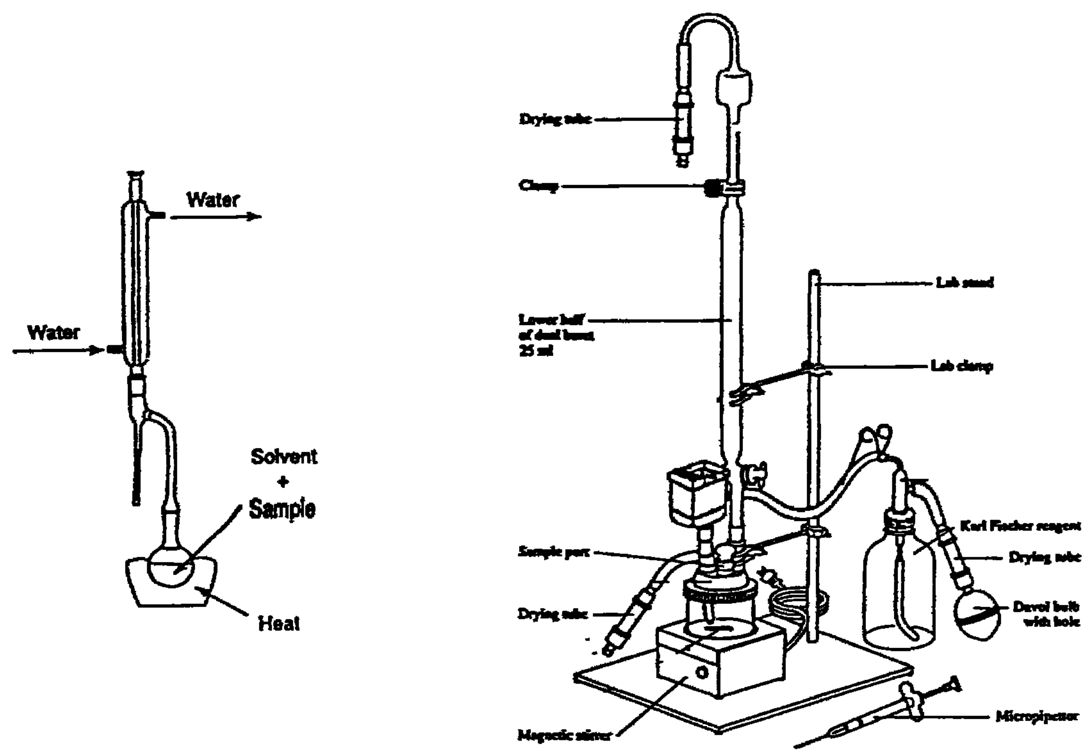
٢- يجب تلافى تداخل رطوبة الهواء الجوى الخارجى فى التفاعل مع محلول فيشر مما يؤدى إلى عدم دقة النتائج المتحصل عليها.

٣- يجـــب التأكد من جفاف الأدوات المستخدمة وألا تكون ملوثة بأى آثـــار مـــن الرطوبة حتى لا يؤدى إلى استهلاك جزء من محلول فيشر.

٤- الأغذيـــة التى تحتوى على فيتامين ج (حمض اسكوربيك) وهو عامـــل مختـــزل يتأكسد بجزء من محلول فيشر ويحسب على أنه تفاعل مع رطوبة العينة وبالتالى يحدث خطأ فى النتائج.

٥- الأغذية المحتوية على مركبات طيارة، يحدث تفاعل بين مركبات الكـــربونيل (المجموعة الفعالة للمركبات الطيارة) مع الميثانول فى محلول فيشر ويتكون الاستيال وتنفرد رطوبة من هذا التفاعل تـــتداخل مـــع اليود وتتفاعل معه، ويصبح ذلك أيضا من مصادر الأخطاء فى حساب نسبة الرطوبة بالعينة.

٦- الأغذيـــة المحتوية على أحماض دهنية غير مشبعة، يحدث تفاعل بـــين الـــيود فى محلول فيشر مع الرابطة الزوجية فى الأحماض الدهنـــية وبالتالى يستهلك جزء من اليود ويكون ذلك من مصادر الأخطاء فى حساب وتقدير المحتوى الرطوبى.



شكل (٤): جهاز كارل فيشر Carl Fischer (أ) وجهاز Bidwell-sterling trap (ب)
لتقدير المحتوي الرطوبي في الاغذية .

ب- تفاعل إنتاج حموضة Acid production reaction

ويعـــتمد هذا التفاعل على استهلاك رطوبة المادة الغذائية فى التفاعل كيميائـــيا مـــع الاســـتيل كلوريد منتجا حموضة تسمى بالحموضة المتوالدة، وعملـــيا يتم تقدير الحموضة الطبيعية لعينة المادة الغذائية قبل إجراء تفاعل الاستيل كلوريد. ثم تؤخذ وزنة من العينة الغذائية يضاف إليها استيل كلوريد وتقـــدر بعـــد ذلك الحموضة الكلية، وهى التى تعبر عن مجموع الحموضة الطبيعـــية للعينة الغذائية والحموضة المتولدة عن تفاعل الرطوبة مع الاستيل كلوريد والفرق بين نتيجة التجربتين ينتج قيمة الحموضة المتولدة الناشئة عن استهلاك الرطوبة، وتسمى هذه الطريقة بطريقة Smith and Bryant method.

ويمكن بمعادلة حسابية تقدير المحتوى الرطوبة للعينة الغذائية:

$$CH_3 \quad COOH + H\,cl \rightarrow H_2O + CH_3\,CO\,cl \quad (1)$$

moisture + acetyl chloride → acetic acid + hydrochloric acid

وبإجراء تجربة بلانك باستخدام كحول ميثانول بدلا من العينة الغذائية حـــيث يتفاعل الكحول مع الاستيل كلوريد منتجا استر ميثيل استيات وحمض هيدروكلوريك.

$$(2)\ CH_3OH + CH_3CO\,cl \rightarrow CH_3 \quad COOH_3 + H\,cl$$

acetyl chloride → methyl acetate + hydrochloric acid methanol +

وبطرح كميات مكافئات حمض الهيدروكلوريك فى تجربة البلانك من كمـــية مكافئات الحموضة الكلية فى تجربة العينة الغذائية ينتج كمية مكافئات حمض الأستيك وبالتالى يمكن حساب وزن حمض الأستيك بالجرام بعد ذلك.

وفـــى هذا التفاعل فإن مول واحد من الاستيل كلوريد يتفاعل مع مول واحد ماء (رطوبة) لينتج مول واحد من حمض الأستيك.

. . . كل مول رطوبة ينتج مول حمض أستيك

أى أن ١٨ جرام ماء ينتج ٦٠ جرام حمض أستيك

∴ كمية الرطوبة بالعينة = $\frac{18}{60}$ × وزن حمض الاستيك في التجربة

∴ % الرطوبة في العينة = $\frac{\text{كمية الرطوبة}}{\text{وزن العينة الرطبة}}$ × ١٠٠

وتصلح هذه الطريقة لتقدير المحتوى الرطوبي للزيوت الزبد التوابل الأغذية المنخفضة الرطوبة.

ج تفاعل إنتاج الغاز Gas production reaction

وتعتمد هذه الطريقة على استهلاك رطوبة المادة الغذائية في التفاعل مع مادة كربيد الكالسيوم كيميائيا منتجا غاز الأستيلين وأيدروكسيد كالسيوم ويمكن من حسابات نواتج التفاعل تقدير كمية الرطوبة بالعينة الغذائية:

$$C_2H_2 + Ca(OH)_2 \rightarrow H_2O + CaC_2$$

Calcium carbide + moisture → acetelyene + calcium hydoxide

ويمكن تقدير المحتوى الرطوبي بعدة طرق تتلخص يما يلي:

١ حساب النقص في الوزن (عينة المادة الغذائية + كربيد الكالسيوم) قبل وبعد إجراء التجربة والذي يعبر عن الرطوبة المستهلكة في التفاعل.

٢- تقدير حجم الغاز المتصاعد (الأستيلين) ثم حساب كمية الرطوبة.

٣- تقدير القلوية الناتجة في التفاعل (أيدروكسيد الكالسيوم $Ca(OH)_2$) بالمعايرة مع حمض معلوم قوته والعيارية ثم حساب عدد مكافئات القلوي ثم حساب وزن أيدروكسيد الكالسيوم بالجرام.

وعلى أساس أن مول ماء واحد يستهلك في التفاعل منتجا مولا واحداً من أيدروكسيد الكالسيوم، فإنه يمكن حساب كمية الرطوبة كما يلي:

كمية الرطوبة بالعينة = وزن ايدروكسيد الكالسيوم بالجرام × $\frac{18}{74}$

$$\text{\% للرطوبة} = \frac{\text{كمية الرطوبة}}{\text{وزن العينة الرطبة}} \times ١٠٠$$

وتصلح هذه الطريقة لتقدير المحتوى الرطوبى فى الدقيق، الزبد، والفانيليا، الصابون.

رابعا: الطرق الطبيعية Physical methods

تعتمد هذه الطريقة على تقدير الخواص الطبيعية للماء Physical properties of water وعلاقة هذه الخواص بنسبة الرطوبة بالعينة ويمكن إيجاز هذه الطرق فيما يلى:

١- طريقة الثابت الكهربى Dielectric methods

حيث تعتمد على قياس التغير فى مقاومة العينة الغذائية للحزمة الكهربية المارة فى هذه العينة، كما تعتمد على أن قيمة الثابت الكهربى للماء هى ٨٠,٣٧ على درجة ٢٠م، ويمكن رسم العلاقة بين قيم الثابت الكهربى ونسب الرطوبة فى عينات قياسية ثم تقدير المحتوى الرطوبى للعينة المجهولة عند قياس ومعرفة الثابت الكهربى لها.

وتصلح هذه الطريقة لتقدير المحتوى الرطوبة للأغذية التى لا تحتوى على أكثر من ٣٠ ٣٥% رطوبة.

٢- قياس معامل التوصيل الكهربى Electrical conductivity methods

يمكن بقياس الاختلاف فى درجة مقاومة عينة المادة الغذائية لمرور تيار كهربى تبعا لاختلاف نسبة الرطوبة بها يمكن معرفة المحتوى الرطوبى لأى عينة، والأساس المبنى عليها هذه الطريقة هو قانون أوم Ohm Low والذى ينص على أن قوة التيار الكهربى مساوية للقوة الدافعة الكهربية Electro motive force مقسومة على المقاومة Resistance.

وجدير بالذكر فإن المقاومة الكهربية لدقيق القمح ذي ١٣% رطوبة تساوى سبع مرات قدر الدقيق ذي ١٤% رطوبة وحوالى ٥٠ مرة لدقيق القمح ذو ١٥% رطوبة. وهذه الطريقة سريعة سهلة تستغرق دقيقة واحدة لإجرائها.

ويمكن عن طريق جداول خاصة تربط العلاقة بين قيم المقاومة الكهربية ونسب الرطوبة تقدير المحتوى الرطوبى للعينة الغذائية.

٣- طرق تقدير الكثافة Density method

وتعتمد هذه الطريقة على تقدير الكثافة Density أو الوزن النوعى Specific gravity للمحاليل الغذائية مثل المشروبات المحاليل السكرية المحاليل الملحية العصائر وذلك بواسطة ميزان وستفال Westphal balance أو ايدروميتر الكثافة Density hydrometer أو قنينة الكثافة Pycnometer. ثم تحويل الكثافة المتحصل عليها إلى ما يقابلها من تركيز مئوى وبالتالى يمكن معرفة نسبة الرطوبة فى العينة.

كما يمكن استخدام أيدرومترات المحاليل مثل أيدروميتر البالنج أو البيروكس أو البومييه لتعيين التركيز المئوى ثم استنتاج نسبة الرطوبة. وتعتبر هذه الطريقة سريعة وسهلة ولو أنها أقل حساسية ودقة بعكس طريقة قنينة الكثافة التى تأخذ وقتا فى عمليات الوزن ولكنها دقيقة فى النتائج المتحصل عليها.

٤- الرفراكتوميتر Refractometry

وهذه الطريقة تعتمد على استخدام خواص انكسار الأشعة الضوئية خلال منشور زجاجى وتعيين معامل الانكسار، بالإضافة إلى أنه يمكن تقدير النسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة فى نفس الجهاز وبالتالى استنتاج نسبة الرطوبة فى العينة.

وتستخدم هذه الطريقة فى تقدير رطوبة الخضراوات الفاكهة المحاليل السكرية المحاليل الملحية منتجات الطماطم.

٥- نقطة التجمد Freezing point method

تجدر الإشارة إلي أنه إذا أضيف الماء لمنتج غذائى فإنه تتغير كثير من الثوابت الطبيعية كما أن بعض خواص المحاليل تعتمد على عدد المكونات التى توجد فى صورة أيونات أو جزيئات.

وهــذه الخــواص تشمل الضغط البخارى Vapor pressure، نقطة الــتجمد Freezing point ونقطــة الغلــيان boiling point والضــغط الأســموزى Osmotic pressure، ويمكن الاستفادة من تقدير أى من هذه الخواص لحساب تركيز المادة المذابة فى المحلول. ويعتبر تقدير نقطة التجمد مــن أكثــر الخــواص الطبيعية أهمية حيث إن نقطة التجمد ترتبط بتركيز العناصر والمعادن فى المنتج الغذائى، وبالتالى فإن كل منتج غذائى له نقطة تجمد تبعا لمحتواها من العناصر المعدنية.

ويمكــن عــن طريق جداول خاصة بتقدير نقطة التجمد فى المنتجات الغذائية معرفة المحتوى الرطوبى.

٦- الطرق البولاريميترية Polarimetric method

وهــذه تستخدم فى حالة المحاليل السكرية وبالتالى يمكن حساب تركيز السكر بها ومنه يستنتج نسبة الرطوبة.

٧- اللزوجة النسبية Relative viscosity

يمكــن عــن طريق تقدير اللزوجة النسبية للعينة الغذائية ومن جداول خاصة تربط العلاقة بين اللزوجة ونسبة الرطوبة معرفة المحتوى الرطوبى فى العينات الغذائية.

٨- طريقة الأشعة تحت الحمراء Infra red methods

وتعــتمد هــذه الطــريقة على تقدير خواص الامتصاص لأشعة تحت الحمــراء لجزيئى الماء وأطوال الموجة المناسبة التى تستخدم لهذا الغرض هــى ٣، ٦,٣ مليمكرون. ويمكن بهذه الطريقة أن تصل حساسية التقدير إلى أجزاء من المليون لكثير من المواد، كما أنها طريقة سريعة دقيقة متخصصة بالمقارنــة بطرق الأفران تحت تفريغ، وتصلح لتقدير المحتوى الرطوبى فى حالة الأغذية الجافة والتوابل.

الاعتبارات الواجب مراعاتها عند تقدير المحتوى الرطوبى فى منتج غذائى:

١- مراعاة اختيار الطريقة المناسبة لتقدير الرطوبة طبقا لنوع وطبيعة العينة الغذائية.

٢- يراعى مجموعة العوامل المؤثرة على دقة النتائج المتحصل عليها مثل: درجة حرارة التجفيف (فى طريقة الأفران) الرطوبة النسبية والتهوية داخل الفرن التفريغ وزن العينة نوع المادة المصنوع منها أطباق الرطوبة موضع وعدد العينات فى الفرن معدل التوصيل الحرارى للعينة زمن التجفيف مساحة سطح العينة الغذائية.

٣- تجهيز العينة قبل إجراء التقدير سواء كانت معلبة أو مجمدة أو مجففة أو سائلة أو صلبة.

٤- مراعاة حساسية بعض المكونات فى العينة الغذائية للهدم والتحلل عند استخدام الحرارة.

٥- تغطية أطباق الرطوبة عند خروجها من الفرن حتى المجفف الزجاجى حتى لا تمتص رطوبة من الجو الخارجى، ويراعى تبريد الأطباق ثم تقدير الوزن بعد ذلك.

٦- تقدير رطوبة العينات المرتفعة المحتوى الرطوبى على مرحلتين.

٧- تدفئة ومزج العينات الغذائية المحتوية على نسبة عالية من السكريات حتى لا يحدث ظاهرة Segregation of sugar.

٨- مراعاة عدم تداخل مكونات العينة الغذائية (غير الرطوبة) فى تفاعل المحاليل الكيميائية عند اتباع الطرق الكيماوية لتقدير الرطوبة.

٩- يجب التأكد من نظافة وجفاف الأدوات ومعايرة الأجهزة قبل إجراء التقدير.

١٠- كتابة وذكر اسم الطريقة المتبعة فى تقدير المحتوى الرطوبى والظروف المحيطة.

الكربوهيدرات
Carbohydrates

تعتبر الكربوهيدرات Carbohydrates من أكثر المركبات العضوية شـيوعا وانتشـارا، وهى مصدر مهم للطاقة فهى تشكل أكثر من ٧٠% من الطاقـة الحـرارية فى الوجبة الغذائية للإنسان، وتتواجد الكربوهيدرات فى الأنسـجة النباتية والحيوانية والكائنات الدقيقة فى صور مختلفة وبتركيزات متباينة، حيث يعتبر سكر الجلوكوز هو المركب الكربوهيدراتى الأساسى فى دم الحـيوانات، بيـنما يمثل الجليكوجين صورة الكربوهيدرات المخزنة فى الكـبد، كذلك تختلف صور الكربوهيدرات فى النباتات وتخزن فى الأنسجة النباتية على صورة نشا أو سليلوز.

وتعطى الكربوهيدرات مجموعة من الخواص أو الصفات فى الأغذية تتلخص فيما يلى:

الحجـم bulk – اللزوجة Viscosity ثبات المستحلبات والرغوة Stability to emulsions and foams المقـدرة على الارتباط بالماء Water holding capacity ثبات التجمد والانصهار Freeze thaw stability الـتلون البنـى browning الـنكهة Flavour الرائحة aroma القوام المرغوب desirable texture الإشباع التام Satiety التحلية Sweetening.

والكـربوهيدرات يمكـن التعبير عنها كيميائيا بأنها هيدرات الكربون hydrates of carbon. والكـربوهيدرات يـتم تخليقها أساسا فى الأنسجة النباتـية من خلال عملية التمثيل الضوئى التى تتم فى البلاستيدات الخضراء مـن عنصـرى غاز ثانى أكسيد الكربون والماء فى وجود الطاقة الضوئية.

وللكربوهيدرات وظائف فسيولوجية وحيوية وتكنولوجية مثل:

١- الكربوهيدرات تدخل فى تركيب الخلية النباتية كجزيئات تركيبية، مثال ذلك السليلوز المكون لجدر الخلايا النباتية.

٢- الكربوهيدرات تدخل فى تركيب الأحماض النووية DNA، RNA فى جميع الكائنات الحية وكمركبات للطاقة مثل ATP.

٣- الكربوهيدرات مصدر رئيسى للطاقة الحرارية فى الكائنات الحية حيث إن كل واحد جرام كربوهيدرات يعطى ٤ سعرات حرارية.

٤- الكربوهيدرات تدخل فى تركيب الجزيئات الحيوية مثل: الجليكوبروتينات Glycoproteins، والجليكوليبيدات Glycolipiols ويكون الشق الكربوهيدراتى فى هذه المركبات هو المسئول عن نشاطها ووظيفتها الحيوية.

٥- الكربوهيدرات بأنواعها المحددة مسئولة عن الطعم الحلو ودرجاته فى الأغذية.

٦- عدم تحويل السكر بالجسم على الوجه الأكمل يؤدى إلى ظهور أعراض مرض السكر Diabetes.

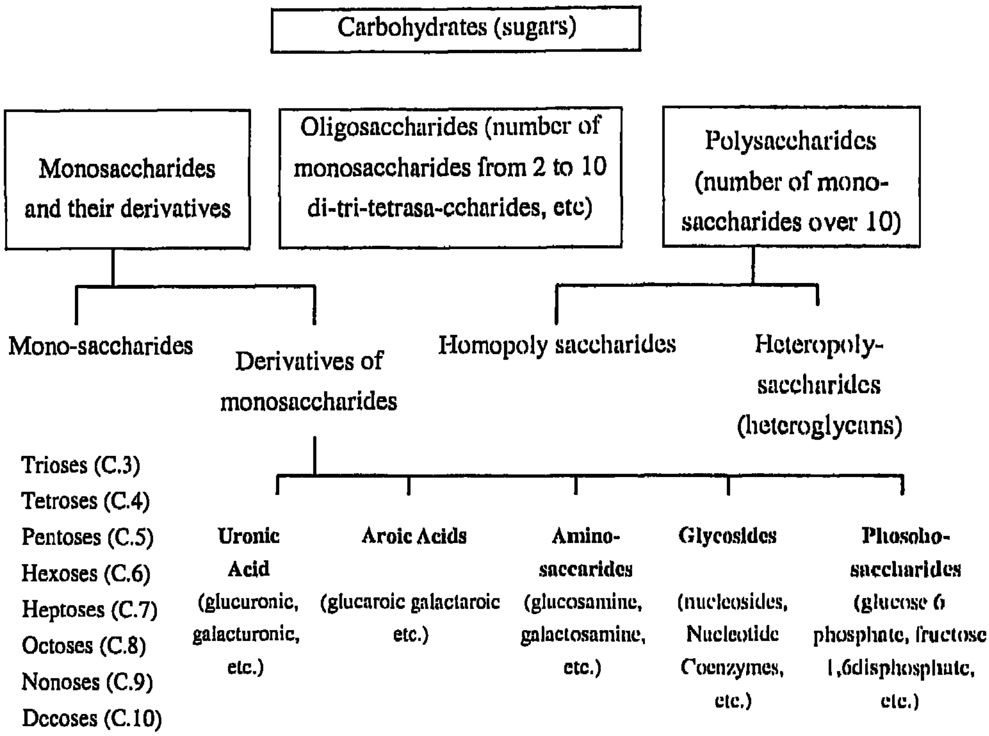
٧- الكربوهيدرات تدخل فى بعض الصناعات الغذائية مثل صناعة الطحن البيرة السكر إلخ.

وتعتبر السكريات الأحادية هى الوحدة البنائية الأولى فى الكربوهيدرات والتى تتركب منها الاوليجو سكريدات Oligosacharids والعديد Polysacharids حيث ترتبط وحدات السكريات الأحادية مع بعضها البعض بروابط جليكوسيدية فى صورة سلاسل مستقيمة أو متفرعة حيث تنزع جزيئات ماء كما فى المعادلة التالية:

$$n\ C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{(n-1)\ H_2O} C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$$

وتتــركب الســكريات الأحاديــة البســيطة مــن عناصر الكربون، الهيدروجين، الأكسوجين والصيغة البنائية العامة هى $C_n H_{2n} O_n$.

والشكل رقم (٥) يوضح تقسيم المواد الكربوهيدراتية تبعا لتركيبها.



شكل رقم (٥) تقسيم الكربوهيدرات تبعا للتركيب

وأبســط تعــريف للكــربوهيدرات أنهــا مــركبات كــربونيل عديدة الهيدروكسيل Polyhydroxy carbonyl ويطلق على المواد الكربوهيدراتية البســيطة لفظ سكر Sugar. والسكريات البسيطة تمتص من خلال الأمعاء الدقــيقة، بينما السكريات المركبة مثل الاوليجوسكريدات والسكريات العديدة يجب أولا أن تهضم وتتحل إلى سكريات أحادية قبل امتصاصها.

وتجدر الإشارة إلى أنه على الأقل ٩٠% من الكربوهيدرات يوجد فى الطبيعة فى صورة سكريات عديدة Polysacharids يمكن للإنسان أن يهضمها ويستخدمها كمصدر للطاقة، كذلك توجد سكريات أخرى غير قابلة للهضم وتقسم إلى مركبات قابلة للذوبان وأخرى غير قابلة للذوبان تسمى الألياف الغذائية Dietary fibre وهذه المركبات لها وظائف حيوية وفسيولوجية للإنسان.

وتقسم السكريات الأحادية على حسب طبيعة مجموعة الكربونيل إلى سكريات الدهيدية aldoses وسكريات كيتونية Ketoses، كما تقسم تبعا لخواصها الطبيعية والكيميائية إلى سكريات متعادلة neutral وهى تلك المحتوية على مجاميع هيدروكسيل وكربونيل فقط، وأخرى قاعدية وهى تلك المحتوية على مجاميع الأمين وتسمى بالسكريات الأمينية aminosugars، ومجموعة ثالثة وهى السكريات الحامضية والتي تحتوى على مجاميع كربوكسيل أو مجاميع حامضية.

ويوضح الجدول رقم (٧) طبيعة وجود الكربوهيدرات فى الأغذية. كما يوضح الجدول رقم (٨) محتوى بعض الأغذية من الكربوهيدرات الكلية.

وفى مقررات الكيمياء الحيوية تم دراسة التركيب الكيميائى والصور الفراغية لأنواع السكريات المختلفة. ويوضح الشكل رقم (٦) الصور الفراغية تبعا لـ Fischer projectin للسكريات الالدهيدية اليمينية والسكريات الكيتونية اليمينية.

جدول رقم (٧): مصادر المواد الكربوهيدراتية في الأغذية

Carbohydrate	*Source*	*Constituent(s)*
Monosaccharides		
D-Glucose (Dextrose)	Naturally occuring in honey, fruits, and fruit juices, Added as a component of corn (glucose) syrups and high-fructose corn syrup. Produced during processing by hydrolysis (inversion) of sucrose.	
D-Fructose	Naturally occurring in honey, fruits, and fruit juices. Added as a component of high-fructose corn syrup. Produced during processing by hydrolysis (inversion) of sucrose.	
Sugar alcohol		
Sorbitol (D-Glucitol)	Added to food products, primarily as a humectant.	
Disaccharides		
Sucrose	Widely distributed in fruit and vegetable tissues and juices in varying amounts. Added sugar (crystalline and liquid)	D-Glucose D-Fructose
Lactose	In milk and products derived from milk	D-Galactose D-Glucose
Maltose	In malt. In varying amounts in various corn (glucose) syrups and maltodextrins	D-Glucose
Higher oligosaccharides		
Maltooligosacchrides	In varying amounts in various corn (glucose) syrups and maltodextrins	D-Glucose
Raffinose	Small amounts in beans	D-Glucose D-Fructose D-Galactose
Stachyose	Small amounts in beans	D-Glucose D-Fructose D-Galactose
Polysaccharides		
Starch	Wide-spread in cereal grains and tubers, Added to processed foods.	D-Glucose
Food gums/hydrocolloids	Added as ingredients	
Algins		
Carboxymethylcelluloses		
Carrageenans		
Guar gum		
Gum arabic		
Hydroxypropylmethylcelluloses		
Locust bean gum		
Methylcelluloses		
Pectins		
Xanthan		
Cell-wall polysaccharides	Naturally occurring	
Pectin (native)		
Cellulose		
Hemicelluloses		
B-Glucan		

جدول رقم (٨) : محتوي الكربوهيدرات الكلية في بعض الأغذية

Food	*Appropriate Percent Carbohydrate (Wet weight basis)*
Cereals, bread, and pasta	
Corn flakes	86
Granola bars, low fat	79.82
Granola bars	71-75
Macaroni, dry, enriched	75
Bread, white	50
Dairy products	
Ice cream	22-27
Yogurt, plain	4.7-6.9
Milk, whole	4.7
Fruits and vegetables	
Applesauce, canned, sweetened	20
Grapes	16-17
Apples, raw, with skin	15
Potatoes, raw, with skin	12
Orange juice	10-11
Carrots, raw	10
Broccoli, raw	5.2
Tomato, tomato juice	4.2
Meat, poultry, and fish	
Fish fillets, battered or breaded	17-19
Bologna and other luncheon meats	4
Chicken, broilers or fryers, breast meat	0
Other	
Honey	75-82
Milk chocolate	59
Salad dressing, pourable, fat-free	10-34
Salad dressing, pourable	3.3-22
Soft drinks, caloric	11-12
Iced tea, sweetened, bottled	7.1-11
Cream of mushroom soup, from condensed and canned	7.4
Light beer	1.3

المصدر، USDA (1997)

جدول رقم (٩): تركيب ومصادر الاوليجوسكريدات

Name	Structure	Occurrence
Disaccharides		
Celeobiose	O-β-D-Glcp (1→4)-D-Glcp	Building block of cellulose
Gentiobiose	O-β-D-Glcp (1→6) D-Glcp	Glycosides (amygdalin)
Isomaltose	O-α-D-Glcp (1→6)D-Glcp	Found in mother liquor during glucose production from starch
Lactose	O-β-D-Galp-(1→4)-D-Glcp	Milk
Lactulose	O-β-D-Galp-(1→4)-D-Frup	Conversion product of lactose
Maltose	O-β-D-Glcp-(1→4)-D-Glcp	Building block of starch, sugar beet, honey
Maltulose	O-α-D-Glcp-(1→4)-D-Fruf	Conversion product of maltose, honey, beer
Melibiose	O-α-D-Glap (1→6)-D-Glcp	Cacao beans
Neohesperidose	O-α-L-Rhap-(1→2)-D-Glcp	Glycosides (naringin, neohesperidin)
Neotrehalose	O-α-D-Glcp (1→1) B-Glcp	Koji extract
Nigerose	O-α-D-Glcp (1→3)-D-Glcp	Honey, beer
Palatinose	O-α-D-Glcp-(1→6) D-Fruf	Microbial product of saccharose
Rutinose	O-α-L-Rhap-(1→6) D-Glcp	Glycosides (hesperidin)
Saccharose	O-β-D-Fruf-(2→1)-α-D-Glcp	Sugar beet, sugar cane, spread widely in plants
Sophorose	O-β-D-Glcp (1→2) D-Glcp	Legumes
Trehalose	O-α-D-Glcp (1→1)-α-D-Glcp	Ergot (*Claviceps purpurea*) young mushrooms
Trisaccharides		
Fucosidolactose	O-α-L-Fucp-(1→2)-O-β-a-Glap (1→4)-D-Glap	Human milk
Gentianose	O-β-D-Glcp-(1→6)-O-α-D-Glap (1→2)-*B*-D-Fruf	Gentian rhizome
Isokestose	O-α-D-Glcp-(1→2)-O-*B*-D-Fruf (1→2)-*B*-D-Fruf	Product of saccharase action on saccharose as a substrate
Kestose	O-α-D-Glcp-(1→2)-O-*B*-D-Fruf (6→2)-*B*-D-Fruf	Saccharose subjected to yeast saccharase activity, honey

تابع جدول رقم (٩): تركيب ومصادر الاوليجوسكريدات

Name	Structure	Occurrence
Maltotriose	O-α-D-Glcp-(1→4)-O-*a*-Glap-(1→4)-D-Glap	Degradation product of starch, starch syrup
Manninotriose	O-α-D-Glcp-(1→6)-O- *a*-Glap-(1→6)-D-Glap	Manna
Melezitose	O-α-D-Glcp-(1→3)-O-B-D-Fruf-(2→1)-*a*-D-Glcp	Manna, nectar
Neokestose	O-*B*-D-Fucp-(2→6)-O-*a*-D-Fruf-(1→2)-*B*-D-Fruf	Product of saccharase action on saccharose as a substrate
Panose	O-α-D-Glcp-(1→6)-O-*a*-D-Glcp-(1→4)-D-Glcp	Degradation product of amylopectin, honey
Raffinose	O-α-D-Galp-(1→6)-O-*a*-D-Glcp-(1→2)-*B*-D-Fruf	Sugar beet, sugar cane, widely distributed in plants
Umbelliferose	O-α-D-Galp-(1→2)-O-*a*-D-Glcp-(1→2)-*B*-D-Fruf	Umbelliferase roots
Tetrasaccharides		
Maltotetraose	O-α-D-Glcp-(1→4)-O-*a*-D-Glcp-(1→4)-O-*a*-D-Glcp-(1→4)-D-Glcp	Starch syrup
Stachyose	O-α-D-Galp-(1→6)-O-*a*-D-Galp-(1→6)-O-*a*-D-Glcp-(1→2)-*B*-D-Fruf	
Higher oligosaccharides		
Maltopentaose	[O-*a*-D-Glcp-(1→4)]$_3$-D-Glcp	Starch syrup
a-Schardinger-Dextrin, Cyclohexaglucan (α, 1→4)		Growth of
β-Schardinger-Dextrin, Cycloheptaglucan (α, 1→4)		*Bacillus macerans*
γ-Schardinger-Dextrin, Cyclooctaglucan (α, 1→4)		

CH_2OH
CO
H-C - OH
CH_2OH
D-erythrolose
(glycerotetrulose)

Ketopentoses

CH_2OH	CH_2OH
CO	CO
H -C - OH	HO-C - H
H -C - OH	H C - OH
CH_2OH	CH_2OH
D-ribulose (erythro-pentulose)	D-tylulose (threo-pentulose)

Ketohxoses

CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH
CO	CO	CO	CO
H C - OH	HO-C - H	H - C - OH	HO-C - H
H - C - OH	H - C - OH	HO-C - H	HO -C - H
H - C - OH	H - C - OH	H -C - OH	H - C - OH
CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH
D-psicose	D-fructose	D-sarbose	D-saratose

Aldostriose

CHO
H-C OH
CH_2OH
D-glyceraldehyde

Aldotetroses

CHO	CHO
H C - OH	HO C - H
H C - OH	H - C OH
CH_2OH	CH_2OH
D-erythrose	D-threose

Aldopentoses

CHO	CHO	CHO	CHO
H C - OH	HO C - H	H C - OH	HO -C - H
H C - OH	H - C OH	HO-C - H	HO C - H
H - C - OH	H - C - OH	H - C - OH	H - C - OH
CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH
D-ribose	D-arabinose	D-xylose	D-lyxose

Aldohexoses

CHO	CHO	CHO	CHO	CHO	CHO	CHO	CHO
H-C -OH	HO-C - H	H- C- OH	HO-C - H	H C -OH	HO-C - H	H - C OH	HO-C - H
H-C - OH	H - C- OH	HO-C - H	HO- C- H	H - C- OH	H- C OH	HO-C - H	HO- C - H
H-C- OH	H - C - OH	H- C-OH	H - C-OH	HO-C - H	HO- C - H	HO- C - H	HO C - H
H-C- OH	H - C - OH	H- C-OH	H- C-OH	H - C - OH	H - C- OH	H - C- OH	H - C- OH
CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH
D-allose	D-altrose	D-glucose	D-mannose	D-gulose	D-idose	D-galactose	D-talose

شكل رقم (٦): المشابهات الفراغية للسكرات الكيتونية والسكرات الالدهيدية اليمينية

الخواص العامة للسكريات البسيطة

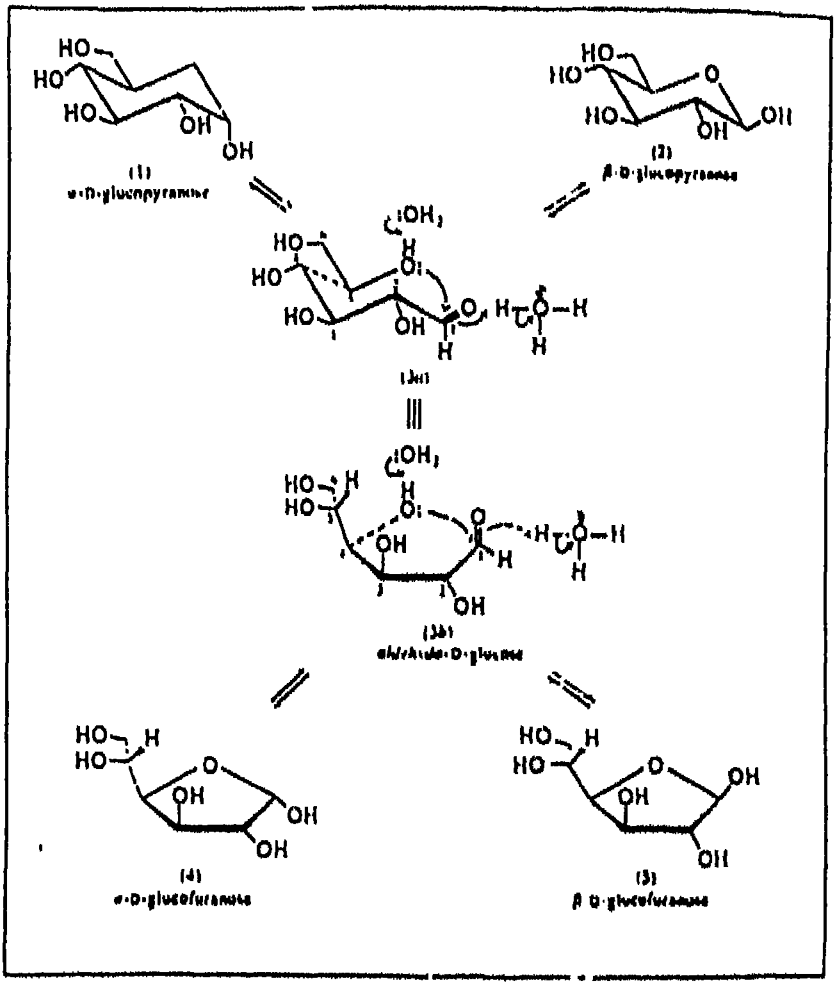
١- الصفات الهيجروسكوبية والذوبان Hygroscopicity and solubility

يختلف الامتصاص الرطوبى للسكريات ويعتمد على تركيب السكر Sugar structure وجود المشابهات isomers present نقاوة السكر Sugar putrity. وتذوب السكريات الأحادية والاوليجوسكريدات جيدا فى الماء بينما تختلف المشابهات فى درجة ذوبانها، كما تذوب السكريات الأحادية بدرجة بسيطة فى الايثانول فى حين أنها غير قابلة للذوبان فى المذيبات العضوية مثل الإيثير والكلوروفورم والبنزين.

٢- الدوران النوعى Optical rotation , Mutarotation

نظرا لاحتواء جزيء السكر الأحادى على مجاميع فعالة، يحدث تفاعل بينها ويتحول الجزيء الى صورة حلقية خماسية Furanose (مشتقة من مركب الفيوران Furan) أو حلقة سداسية Pyrnose (مشتقة من مركب البيوران Puran) وتظهر مجموعة هيدروكسيل الهيمى استيال hemiacetal نتيجة لهذا التحور ويتكون مشابهان جديدان هما المشابه ألفا α. والمشابه بيتا β وبذلك يزيد عدد المشابهات الفراغية بمقدار الضعف، وفى المحاليل المائية للسكريات التى تحتوى على مجموعة هيدروكسيل الهيمى استيال الحرة تحدث ظاهرة الـ mutarotation، وقد أثبتت الأبحاث أن محلول الجلوكوز على درجة حرارة الغرفة يحتوى على خمس صور متزنة تختلف فى تركيزها، ويعتمد قياس تركيز السكر بالطرق البولاريمترية على درجة انحراف الضوء المستقطب نتيجة وجود ذرات الكربون غير المتناسقة فى الجزيء والتى يتناسب قيمتها مع التركيز ويوضح الشكل رقم (٧) حدوث ظاهرة الـ mutarotation فى الجلوكوز.

ويمكن تقدير معامل الدوران النوعى [α] Specific rotation constant باستخدام المعادلة التالية:



شكل (٧): ظاهرة الـ Mutarotation في الجلوكوز .

$$\left[\alpha\right]_{\lambda}^{\alpha \cdot t} = \frac{100}{L\,C}$$

حيث L هو طول الأنبوبة بالديسيمتر، C التركيز للسكر، α هى زاوية دوران المحلول بالبولاريميتر. ويعتمد الدوران الضوئى على درجة الحرارة وطول الموجة الضوئية.

٣- الخواص الحسية Sensory properties

تعتبـــر الســـكريات الأحادية والاوليجوسكريدات والسكريات الكحولية المناظـــرة لهـــا ذات طعـــم حلـــو Sweet بينما سكر بيتا مانوز اليمينى B D mannose ذو طعـــم لازع كـــذلك بعض الاوليجوسكريدات مثل ســكر Gentobioses. وجديـــر بالذكـــر فإن أهم المحليات هى السكروز Sucrose وشراب النشا Starch syrup (مخلوط من الجلوكوز المالتوز والمالتواوليجو سكريدات) والجلوكوز Glucose. وهناك أيضا من المحليات الســكر المحول invert sugar، الفراكتوز fructose، الكحولات السكرية Sugar alcohols، اللاكـــتوز Lactose، شـــراب الفـــراكتوز والجلوكوز fructose glucose syrup. وتختلف السكريات فى درجة جودة وحلاوة وكـــثافة أو تركيز الطعم الناتج، ويمكن تقدير درجة الحلاوة بالمقارنة بدرجة حلاوة السكروز كمرجع. ويوضح الجدول رقم (١٠) درجات الحلاوة النسبية للسكريات الأحادية بالنسبة للسكروز. وتعتمد درجة الحلاوة للطعم على عدة عوامل منها: نوع السكر درجة الحرارة رقم الحموضة مدى وجود شوائب مصاحبة.

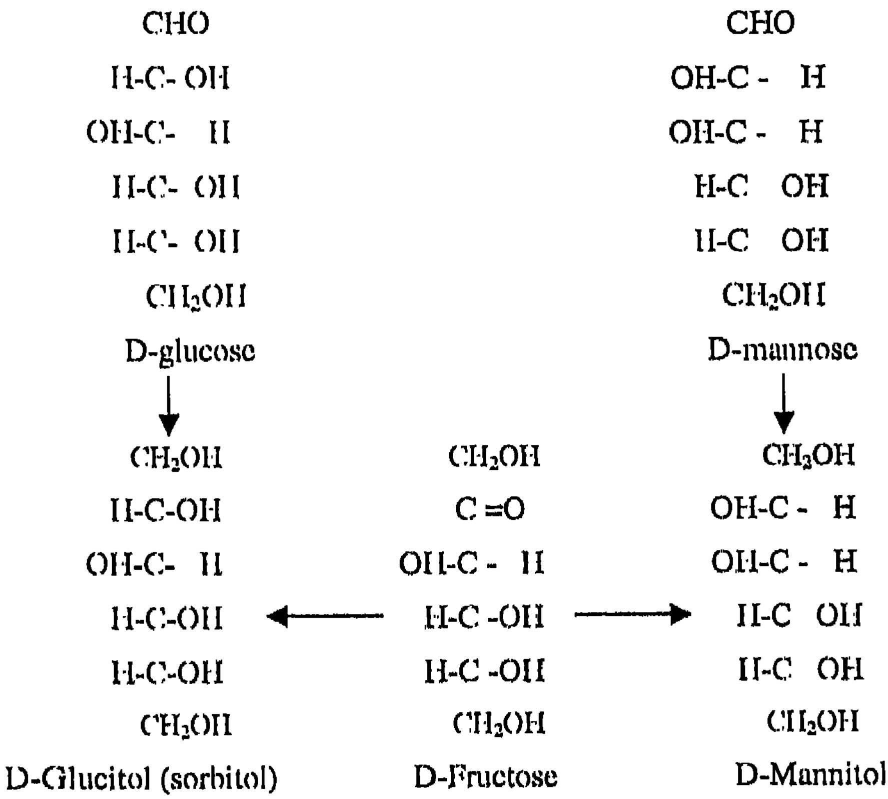
وبصفة عامة فإن تركيب وتركيز المادة المحلية يمكن أن تحدد بدرجة كبيرة الخواص الحسية المثلى للمنتج الغذائى.

جدول رقم (١٠): درجات الحلاوة النسبية للسكريات والكحولات السكرية بالنسبة للسكروز

Sugar/ sugar alcohol	Relative sweetness	Sugar/ Sugar alcohol	Relative Sweetness
Saccharose	100	D Mannitol	69
Galactitol	41	D Mannose	59
D-Fructose	114	Raffinose	22
D-Galactose	63	D-Rhamnose	33
D-Glucose	69	D Sorbitol	51
Invert sugar	95	Xylitol	102
Lactose	39	D Xylose	67
Maltose	46		

٤ – تفاعلات الاختزال Reduction reactions

تختــزل السكريات الأحادية إلى الكحولات المقابلة بواسطة $NaBH_4$ ويشــتق اســم الكحول الناتج من اسم السكر المتفاعل وذلك باستبدال المقطع ose أو ulose بالمقطــع itol ويعتبــر الســكر الكحولــي زيليتول Xylitol مــن أهــم الســكريات فــي التصنيع الغذائي، وجدير بالذكر فإن الســكريات الكحولية مثل D , L mannitol , D , L altritol , D , L glucitol تســتخدم كاســتبدالات فــي الخلطات الغذائية وذلك لتقليل درجة النشــاط المائي في الأغذية متوسطة الرطوبة وكمواد ملينة Softeners أو مــواد مثــبطة للتبلور crystallization inhibitors وكذلك كمواد محسنة لخواص الاسترجاع في الأغذية المجففة.

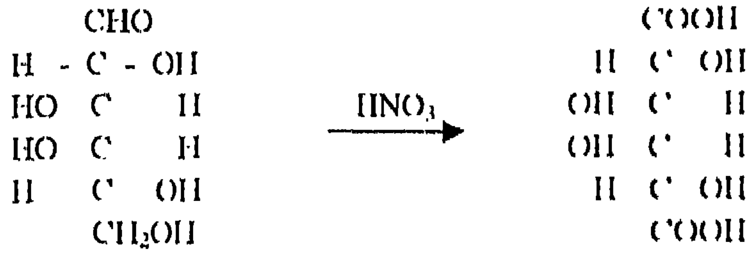


تفاعلات الاختزال فى السكريات الأحادية

٥- تفاعلات الأكسدة Oxidation reactions

تتأكسد الألدوزات aldoses إلى الأحماض الألدونية المقابلة aldonic acids بواسطة ماء البروم فى وسط متعادلة أو قلوى ، وتتأكسد الصورة β-pyranose بدرجة أسرع من الصورة α- pyranose ويكون ناتج الأكسدة مركب Lactone σ. ويشتق اسم المركب باستبدال المقطع ose بالمقطع onic acid.

ويتأكسد السكر بواسطة العوامل المؤكسدة القوية مثل حمض النتريك حيث تتأكسد المجموعة الألدهيدية الأولى ومجموعة الهيدروكسيل الطرفية ويتكون مركب ثنائى الكربوكسيل.



Galactose   Mucic acid

وتـــوجد عدد من الأحماض السكرية فى الطبيعة وبعضها يعتبر مكون للســكريات العديـــدة وذات أهمية فى التصنيع الغذائى كمواد مكونة للجـــل gel forming أو مــــواد عوامل تكوين القوام thickening agents مثل البكتين Pectins.

٦- التفاعل فى وجود الأحماض والقلويات

تعتبـــر السكريات الأحادية ثابتة نسبيا فى وسط ذي مدى من رقم الـــ pH ما بين ٣ ٧. وعند معادلة المحلول السكرى بحمض معدنى (حمض هـــيدروكلودريك أو كبـــريتيك) تـــتكون بعض النواتج نتيجة تكسير السكر. ويخـــتلف لـــون هـــذه المـــركبات على حسب ظروف التفاعل (مثل تركيز الحمض ودرجة الحرارة) ويظهر لون غامق واسوداد ويرجع ذلك إلى تكون مركب غير ذائب " دوبال humus " يحتوى على نسبة مرتفعة من الكربون. ويستخدم هذا التفاعل فى التمييز بين السكر الكيتونى والسكر الألدهيدى ففى حالـــة الســـكر الكيتونى تتكون حلقة لونها وردى بنى بسرعة عند سطح الانفصال بينما لا يحدث ذلك فى حالة السكر الألدهيدى ويستغرق التفاعل فى هذه الحالة وقتاً طويلاً.

وتتفاعل السكريات الأمينية مع جواهر كشافة معينة فى الوسط القلوى وتنـــتج مشتقات حلقية غير متجانسة (كروموجين) والتى يمكن تكثيفها مع جوهـــر معـــين فيتكون لون مميز. ويعتبر مركب 2- methylpyrrole هو الكروموجين الأساسى والمسبب للون بعد تكثيفه مع جوهر ارليش Ehrlich.

٧- الكرملة Caramelization

تعتبـــر كرملة السكريات تفاعلات اغمقاق لا إنزيمى يحدث فى غياب المـــركبات النتـــروجينية، وهـــو يخـــتلف عن تفاعلات ميلارد Maillard reactions الـــذى يـــتطلب بالضرورة وجود مركبات نيتروجينية و أحماض أمينية. وعملية الكرملة تحدث نتيجة تسخين السكريات فى غياب الماء.

وتـــتم عملية الكرملة على ثلاث مراحل مميزة يفصل كلاً منها فاصل زمنـــى، وفـــى كـــل مـــرحلة تـــتكون مـــركبات تكرمل معينة مثل صبغة Caramelan التـــى تـــذوب فـــى المـــاء و الكحول ولها طعم مر، وصبغة Caramelene التـــى تـــذوب فـــى الماء فقط، وكما ذكر فإن نواتج عملية الكرملة مركبات ملونة بنية مصحوبة بروائح ونكهة مميزة.

٨- التفاعل مع المركبات الأمينية Reaction with amino compounds

تعتبـــر تفاعلات تكوين الـــ N- glycosides ضمن تفاعلات ميلارد أو تفاعلات التلون اللا إنزيمى non-enzymatic browning reactions. وتحدث هذه التفاعلات فى الظروف الآتية:

- تفاعـــل الســـكريات المختـــزلة مـــع البـــروتينات أو الببتـــيدات أو الأحماض الأمينية أو الأمينات.
- التسخين لدرجات حرارة مرتفعة.
- درجة نشاط مائى منخفض.
- الســـكريات المـــتفاعلة تنحصـــر أساسا فى الجلوكوز، الفراكتوز، مالتوز، لاكتوز، بنتوزات مختزلة.

وتـــؤدى تفـــاعلات التلون فى الأغذية إلى عدة تأثيرات يمكن إيجازها فيما يلى:

١- صـــبغات الـــتلون البنى Brown pigments مثل صبغة الميلانويدين melanoidins والتـــى تحـــتوى علـــى كميات متغيرة من النتيروجين وتخـــتلف فى الوزن الجزيئى وتذوب فى الماء. وتفضل تفاعلات التلون فى بعض المنتجات الغذائية و المعاملات التكنولوجية مثل الـــ baking ،

roasting ولكـــنها غيـــر مرغوبة في الأغذية ذات اللون الضعيف مثل الألبان المكثفة، وشوربة الطماطم

٢- المـــركبات الطيارة والتي تسبب الرائحة والنكهة المميزة، فإن تفاعلات مـــيلارد تســـهم فـــي تكون الرائحة المرغوبة في معاملات frying , roasting , baking.

٣- مواد النكهة خاصة المرة bitter substances تسبب طعماً غير مقبول كما في الأسماك واللحوم المشوية.

٤- المركبات ذات الصفة الاختزالية العالية يمكن أن تؤثر على ثبات الأغذية بالنسبة للفساد التأكسدي.

٥- يحـــدث فقـــد في الأحماض الأمينية الأساسية مثل السيستين Cysteine والمثيونين methionine.

٦- تتكون مركبات ذات خواص تحولية ودوران ضوئي mutagenic.

٧- الـــتفاعلات التـــي تحـــدث بـــين مـــركبات الفـــا داي كـــربونيل مثل الـــ deoxyosones التـــي تنـــتج في تفاعلات ميلارد وبين الأحماض الأمينية والتـــي تسمى بتفاعلات Strecker، وهذه تحدث في الأغذية المرتفعة في محـــتواها من الأحماض الأمينية الحرة وتحت ظروف شديدة مثل الحرارة العالية أو تحت ضـغط منتجة الدهيدات ومسببة رائحة مميزة للمنتج الغذائي.

ويمكـــن تثبـــيط تفـــاعلات ميلارد وذلك بخفض قيمة رقم الحموضة والمحافظة ما أمكن على انخفاض درجات الحرارة وانخفاض الرطوبة خلال معـــاملات التصنيع والتخزين كذلك استخدام سكريات غير مختزلة، كما أن السلفيت يثبط تفاعلات ميلارد أيضا عند تجفيف الأغذية.

٩- الأسترة Esterifation

تتفاعل السكريات الأحادية مع مجاميع الاسيل وتسمى العملية بالأستلة Acetylation فـــي حالـــة الـــتفاعل مع الاستيك انهيدريد في وجود محلول بيـــريدين. وتتواجد استرات السكريات الأحادية في الطبيعة وتعتبر استرات

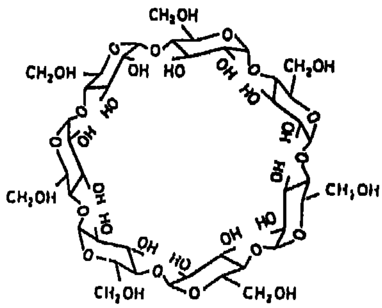
حمــض الفورسفوريك مركبات وسطية مهمة فى عمليات التمثيل حيث تكون اســترات حمــض الفوســفوريك بعــض مــركبات الســكريات العديــدة polysacharids. ويمكــن إنتاج استرات السكريات أو استرات السكريات الكحولــية مع أحماض دهنية طويلة السلسلة الكربونية وهذه المركبات ذات أهمــية كمــواد ذات نشاط سطحى ذات الاستخدامات المتنوعة فى معاملات التصنيع الغذائى.

يعتبــر مــركب B- cyclodextrin مــن أهم الاوليجو سكريــات ويــتكون مــن ســبع وحــدات جلوكوز ويتميز بأنه غير هيجروسكوبــى non-hygroscopic وذو حــلاوة بسيطة، كما أن شكل الجزىء أسطوانى ويستخدم فى التصنيع الغذائى كمواد مناسبة لتثبيت الفيتامينات Stabilizing vitamin agent ومركبات الرائحة aroma substances وكمواد لمعادلة الطعم للمركبات المرة.

السكريات العديدة Polysacharids

تتركب السكريات العديدة من وحدات من السكريات الأحادية ترتبط مع بعضــها البعض بروابط جليكوزيدية Glycoside linkages، وبالتالى فإن السكريات العديدة عبارة عن بوليمرات polymers تتكون من أكثر من ١٠ وحــدات من السكر الأحادى، وقد تكون هذه البوليمرات متجانسة أى تحتوى على نوع واحد من السكر الأحادى كوحدة تركيبية فيسمى homoglucans وقــد تكــون غيــر متجانسة تحتوى على أكثر من نوع من السكر الأحادى كوحدة تركيبية فتسمى heteroglucans. كما أن وحدات السكر الأحادى قد تكون فى شكل سلسلة مستقيمة Linear chain كما فى السليلوز cellulose والأمــيلوز amylose أو فى شكل سلاسل متفرعة branched chain كما فــى الأميلوبكتــين amylopectin والجليكوجــين glycogen والجواران guaran. وتتكون السكريات العديدة الموجودة فى الطبيعة من وحدات يصل عــددها مــن ١٠٠ وحدة إلى عدة آلاف من وحدات السكر الأحادى، وتلعب

هذه السكريات العديدة دوراً هاماً فى تحديد الصفات الريولوجية للأغذية مثل صـــفات الصـــلابة اللـــزوجة والقرمشة إلخ. وتقترب السلاسل من بعضـــها فـــى حالة الجزيئات الخطية المتجانسة كما فى حالة السليلوز حيث ترتبط فى خطوط متوازية بما يؤدى إلى تكوين مناطق بللورية فى الجزىء لا تساهم فى تكوين روابط هيدروجينية.



شكل (٨) : التركيب البنائى للبيتاسيكلودكسترين B-cyclodextrin

ولذا تكون غير ذائبة فى الماء، وجدير بالذكر فإن السكر العديد يحتوى بالإضافة إلى ذلك، على مناطق لا بللورية يمكنها تكوين روابط هيدروجينية تكون أقل ثباتا.

ومـــن أهم السكريات العديدة فى الأغذية النشا Starch الجليكوجين glycogen، الســـليلوز Celullose، الهيمـــى ســـليلوز hemicellulose، البنـــتوزان pentosan، الدكســـترينات الحلقـــية cyclodextrin، البولـــى دكستروز polydextrose، المواد البكتينية pectic substances، الصموغ gums، السليلوز المحور modified cellulose، النشا المحور modified starch الألياف fibers.

ويوضـــح الجـــدول رقم (١١) أمثلة للاستخدامات الغذائية للسكريات العديدة.

وتعتبر السكريات العديدة ذات أهمية كبيرة لعدة أسباب وهى:

١- مصـــدر المكـــونات الغذائية الأكثر استهلاكا مثل الأميلوز والأميلوبكين والتى تعتبر المكونات الرئيسية للحبوب النشوية والبقوليات.

٢- تعتبر مخزن السكريات الأحادية فى الحيوانات مثل الجليكوجين.

٣- تعتبر المادة الأولية للتفاعلات الإنزيمية أو التحليل الانزيمى.

٤- مـــواد ذات أهمية تكنولوجية فى التصنيع الغذائى كمواد جيلية gelling angents أو مـــواد ثخانة أو قوام thickness agents مثلا أو مثبتات للمســتحلبات emulsion stabilizers مواد تغطية coating agent أو مواد مالئة فى الوجبات الغذائية.

٥- الســكريات العديــدة تكون المواد المسئولة عن تكوين جدر الخلايا فى النباتات (السليلوز) أو الهيكل فى المفصليات (الكيتين Chitin)

٦- مــركبات الجلوكوزامــين جليلوكانات glucosaminoglycans وهى جليكوبروتين وتدخل فى تكوين السوائل الحيوية فى الأعضاء الحيوانية.

٧- السكريات العديدة مواد ترتبط بالماء Water binding substances مثل الآجار البكتين الالجينات فى النبات ومثل الميوكو بولى سكريد فى الحيوان.

جدول رقم (١١) استخدامات السكريدات العديدة في مجال الأغذية

Area of application/food	Sutiable polysaccharides
Stabilization of emulsions/suspensions in condensed milk and chocolate milk	Carrageenan, algin, pectin, carboxymethylcellulose
Stabilization of emulsions in coffee whiteners, low-fat margarines	Carrageenan
Stabilization of ice cream against ice crystal formation, melting, phase separation; improvement of consistency (smoothness)	Algin, carrageenan, agar, gum arabic, gum tragacanth, xanthan gum, guaran gum, locust bean flour, modified starches, carboxymethylcellulose, methylcellulose
Water binding, improvement of consistency, yield increase of soft cheese, cream cheese, cheese preparations	Carragenan, agar, gum tragacanth, karaya gum, guaran gum, locust bean flour, algin, carboxymethylcellulose
Thickening and gelation of milk in puddings made with and without heating, creams; improvement of consistency	Pectin, algin, carrageenan, guaran gum, locust bean flour, carboxymethylcellulose, modified starches
Water binding, stabilization of emulsions in meat products (corned beef, suasage)	Agar, karaya gum, guaran gum, locust bean flour
Jellies for meat, fish, and vegetable products	Algin, carrageenan, agar
Stabilization and thickneing, prevention of synaeresis, freeze-thaw staiblity of soups, sauces, salad dressing, mayonnaise, ketchup; -fat and low-starch products	Gum tragacanth, algin, karaya gum, xanthan gum, guaran gum, locust bean flour, carboxymethylcellulose, propylene glycol alginate, modified starches
Stabilization of protein foam in beer, whipped cream, meringues, chocolate marshmallows	Algin, carrageenan, agar, gum arabic, karaya gum, xanthan gum
Prevention of starch retrogradation in bread and cakes, water binding in dough	Agar, guaran gum, locust bean flour, carrageenan, xanthan gum
Thickening and gelation of fruit pulp (confiture, jams, jellies, fruit pulp for ice cream and yoghurt)	Pectin, algin
Gelation of jelly candies, jelly beans, glaze, icing, water-dessert jellies	Pectin, algin, carrageenan, agar, gum arabic, modified starches
Sediment stabilization in fruit juices,	Algin, pectin, propylene glycol alginate, gum arabic, xanthan gum, guaran gum, methylcellulose
Stabilization of powdery aroma emulsions, encapsulation of aroma substances	Gum arabic, gum ghatti, xanthan gum.

المصدر: Belitz , Grosch (1999)

٨- تعـــتمد الخواص الوظيفية Functional properties للسكريات العديدة علـــــى الاختلافات فى الخواص والصفات الطبيعية والتركيب الكيميائى لهـــا، فهى توجد فى صورة غير قابلة للذوبان insoluble forms مثل الســـليلوز كما يوجد منها الصورة القابلة للذوبان وذات القوى الانتفاخية swelling power ســـواء فى الماء الساخن أو البارد مثل النشا وصمغ الجوار، كما أن بعض المركبات تعطى محاليل ذات لزوجة منخفضة فى التركيـــزات العالـــية منها مثل الصمغ العربى أو تعطى محاليل مرتفعة اللزوجة فى التركيزات المنخفضة مثل صمغ الجوار.

٩- تعـــتمد خواص السكريات العديدة على نوعية تركيب هذه السكريات هل هـــى ذات سلســـلة مستقيمة أو متفرعة نوع الرابطة الجليكوزيدية الـــوزن الجزيئـــى ومثال على ذلك خواص اللزوجة تختلف من سكر عديد إلى اخر، وبمقارنة لزوجة محاليل متساوية التركيز وتحتوى على أنـــواع مـــن البولـــى ســـكريد متساوية الوزن الجزيئى نجد أن محاليل الســـكريات العديـــدة ذات السلاسل المتفرعة أقل لزوجة من مثيلتها ذات السلاســـل المســـتقيمة، وبالتالـــى فـــإن السكريات العديدة ذات السلاسل المستقيمة تعطى لزوجة وحجماً أعلى.

١٠- تتميز السكريات العديدة ذات السلاسل المتفرعة بميل أقل للترسيب عن السكريات الأخرى.

١١- الســـكريات العديـــدة ذات مجاميع الكربوكسيل مثل البكتين والألجينات والكربوكســـى ميثـــيل سليلوز تكون ذات قابلية عالية للذوبان فى وسط مـــتعادل أو قاعدى من رقم الـــ pH، وتكون الجزيئات سالبة الشحنة لوجود مجموعة الكربوكسيل وذات قوة تنافرية، ويلاحظ ارتفاع لزوجة المحلول ويتوقف ذلك على رقم الـــpH، كما أن القوة الجيلية تحدث عند رقم pH مساو أو أقل من ٣.

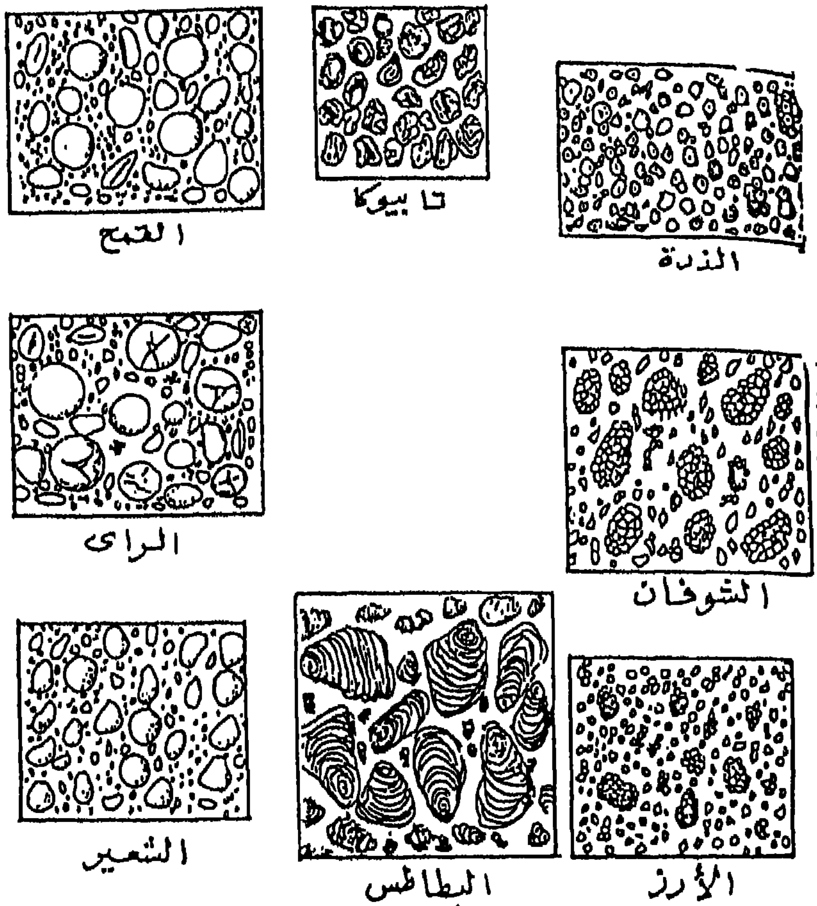
النشا Starch

يعتبر النشا بوليمر متجانس الوحدة النباتية فيه هو الجلوكوز d-glucose وهو الصورة الكربوهيدراتية المخزنة فى النبات ويوجد فى الطبيعة على صورة حبيبات Granules محددة الشكل والأبعاد ويمكن تمييزها مجهريا. ويعتبر النشا من أهم المصادر الكربوهيدراتية لتغذية الإنسان.

ويتكون النشا من الأميلوز amylose (وهو بوليمر ذو سلسلة مستقيمة من وحدات الجلوكوز ترتبط مع بعضها بالرابطة الجليكوزيدية من النوع α-1-4) ومن الأميلوبكتين amylopectin (والتى ترتبط فيها وحدات الجلوكوز بالرابطة الجليكوزيدية α-1-4 وترتبط عند نقط التفرعات برابطة جليكوزيدية α- 1-6).

وتتفاوت عدد وحدات البوليمر المكون لجزىء النشا تبعا لمصدر النشا وفى معظم النشويات الشائعة مثل الذرة والأرز والبطاطس فإن الأميلوز يشكل ١٧ ٣٠% من تركيب الجزىء الكلى، بينما فى حالة نشا البسلة والذرة الشمعية يحتوى النشا على ٧٥% أميلوز.

ويوضح الجدول رقم (١٢) خواص وتركيب حبيبات النشا المختلفة.



شكل (٩): الاشكال المجهرية لبعض حبيبات النشا من مصادر مختلفة .

جدول رقم (١٢): خواص وتركيب حبيبات النشا المختلفة

Source	Shape[a]	Dia-meter (µm)	Cary-stalin-ity(%)	Gela-Tiniza-tion temp. (°C)	Sweel-Ing at 95°C[b]	Amylose		Amylopectin	
						Percentage (%)[c]	Poly-meris-ation degree	Iodine bind-ing cons-tant[d]	Poly-meri-zation degree[e]
Cereal									
Wheat	l,p	2-38	36	53-65	21	26-31	2100	0.21	19-20
Rye	l	12-40		57-70		28		0.74	26
Barley	l	2-5		56-62		22-29	1850		26
Corn	p	5-25		62-70	24	28	940	0.91	25-26
Amylomaize			20-25	67-87		52-80	1300	0.11	23
Waxy corn	p		39	63-72	64	0-1			20-22
Oats		5-15		56-62		27	1300		20
Rice	p	3-8	38	61-78	19	14-32		0.59	
Waxy rice				55-65	56	1			
Millet	p,s	4-12							
				69-75[f]	22[g]				
Sorghum	p,s	4-24				21-34			
Waxy sorghum				68-74	49				
Legumes									
Horsebean	s,o	17-31		64-67		32-34	1800	1.03	23
Smooth pea	n(si)	5-10				33-35	1300	1.66	26
				57-70[h]					
Wrinkled pea	n(c)	30-40				63-75	1100	0.91	27
Roots and rubers									
Potato	c	15-100	25	58-66		23	3200	0.58	24
Cassava	sem-s,s	5-35	38	52-64		17		1.06	

المصدر: Belitz , Grosch (1999)

a: I = lenticular, p = polyhedral, s = spherical, o = oval, n = kidney-sharped, el = elliptical, si = simple, c = compound.

b: Weight of swollen starch, based on its dry weight; loss of soluble polysaccharides is considered.

c: Based on the cum of amylose and amylopectin.

d: mg iodine/100 mg starch.

e: Cleavage degree of polymerization, determined by degradation of branches with pullulanse or isomylase.

f: Tapioca.

g: Millet.

h: Pea.

ويمكـــن فصـــل الأمليوز عن الأميلوبكتين بعملية جلتنة للنشا فى الماء علـــى درجة حرارة مرتفعة مع ضغط وتتأثر عملية الجلتنة بعدة عوامل مثل الـــ pH معدل التسخين وجود أملاح وجود سكريات أخرى.

ومـــن الظواهر المهمة ظاهرة التجلد Retrogradation والذى يعتبر الأميلوز هو المكون المسئول عن حدوثها وتحدث هذه الظاهرة بإجراء تبريد بطـــىء لعجينة النشا كما أن التجميد يؤدى إلى الإسراع الشديد لعملية التجلد حيث إنه بعد الإذابة تتكون كتلة عجينية تفقد كمية كبيرة من الرطوبة بمجرد الضغط الخفيف عليها، وتجدر الإشارة إلى أن ظاهرة بيات الخبز Staling تعـــزى إلـــى حـــدوث ظاهرة التجلد للنشا ويزداد معدل التجلد عند درجات الحـــرارة المنخفضـــة، كمـــا أن التجميد يثبط حدوث عملية التجلد فى الخبز وبالتالى يمنع ظاهرة البيات.

ويعتبـــر النشا من أهم المكونات المستخدمة فى التصنيع الغذائى كمواد رابطة binding ومواد مكسبه للقوام tkickening agents وبستخدم فى إنـــتاج الـــبودنج Pudding والمـــرقة Soups وصلصـــلة التوابل Sauce ووجـــبات أغذية الأطفال و infant diets، المايونيز mayonnaise وغير ذلك. ويعتبر نشا الذرة Corn starch أهم النشويات الغذائية المستخدمة فى هـــذا المجال وتستخدم طبقة الأميلوز كمادة واقية للفاكهة المجففة حيث تمنع التصـــاقها، كمـــا أن معاملـــة المقليات بالأميلوز يقلل قابليتها للأكسدة، هذا بالإضافة إلى أن طبقات الأميلوز الرقيقة amylose films يمكن استخدامها كأغلفـــة غذائـــية فـــى تعبئة الأغذية، ولا يقل الأميلوبكتين أهمية حيث إنه يستخدم كمادة مثبتة Stabilizer أو مادة مكسبة للقوام thickener.

ويوضـــح الجـــدول رقـــم (١٣) الاســـتخدامات الغذائية للأميلوبكتين ومشتقاته.

جدول رقم (١٣): الاستخدامات الغذائية للأميلوبكتين

Starch	Utilization
Unmodified waxy starch (also in blend with normal starch and flours)	Salad deressing, sterilized canned and frozen food, soups, broth, puffed cereals, and snack food
Pregelatinized waxy starch or isolated amylopectin	Baked products, paste (pate) fillings, sterilized bread, salad dressing, pudding mixtures
Thin boiling waxy starch	Protective food coatings
Cross-linked waxy starch	Paste fillings, white and brown sauces, broth, sterilized or frozen canned fruit, puddings, salad dressing, soups, spreadable cream products for sandwiches, infant food
Waxy starch, hydroxypropyl ether	Sterilized and frozen canned food
Waxy starch, carboxymethyl ether	Emulsion stabilizer
Waxy starch acetic acid ester	Sterilized and frozen canned food, infant food
Waxy starch succinic- and adipic acid esters	Sterilized and frozen canned food, aroma encapsulation
Waxy starch sulfuric acid ester	Thickening agent, emulsion stabilizer, ulcer treatment (pepsin inhibitor)

المصدر: Belitz , Grosch (1999)

النشا المحور Modified starch

يمكن توظيف خواص النشا ومشتقاته بعدة طرق طبيعية أو كيميائية لإنتاج أنواع مختلفة من النشا تلاءم لاستخدامات وأغراض غذائية معينة، وتسمى هذه النواتج المعدلة بالنشا المحور.

١- النشا المحور ميكانيكيا Mechanically damaged strach

عندما تتعرض حبيبات النشا للتكسير بعملية طحن وباستخدام ضغط فإن الجزء البللورى منها يزيد مؤديا إلى تحسين خاصية الانتشار dispersibility والقابلية للانتفاخ Swellability فى الماء البارد وتنخفض درجة حرارة الجلتنة بمعدل ٥ ١٠ درجات وتزداد القابلية للتحليل الانزيمى وتجدر الإشارة إلى أن عجينة الخبز التى تحضر من دقيق يحتوى على نشا من هذا النوع فإن معدل امتصاص الماء يكون أسرع وأعلى كذلك يكون هدم الأميلوز أكبر.

٢- النشا المبثوق Extruded strach

عند تسخين النشا على درجة حرارة ١٨٥ ٢٠٠ م فإنه يحدث تحلل جزىء الأميلوز وتحدث تغيرات كيميائية، ويتميز النشا الناتج بسهولة قابلية للانتشار وأفضل قابلية للذوبان كما يتصف بانخفاض اللزوجة. ولقد لوحظ احتواء هذا النوع على بعض من سكريات المالتوز ايسومالتوز والجينبتوز وسكر ١، ٦ انهيدروجلوكوبيرانوز.

٣- الدكسترينات Dextrins

عند تسخين النشا المحتوى على رطوبة أقل من ١٥% وذلك لدرجة حرارة ١٠٠ ٢٠٠م مع كميات بسيطة من عامل مساعد حامض أو قاعدى فإن ذلك يؤدى إلى تحلل للنشا اعتمادا على ظروف المعاملة. ويستخدم هذا النوع كمادة عازلة فى الحلويات adhesive أو كبدائل للدهون Fat substitutes.

٤- النشا سابق الجلتنة **Pregelatinized starch**

ويحضـــر ذلك النوع بتسخين معلق النشا إلى درجة حرارة الجلتنة ثم تجفيف المعلق على أسطوانات أفقية أو التجفيف بطريقة الرذاذ، والنشا الناتج يتميز بسرعة تشربه بالماء ويكون عجينة أو جيل عند التسخين، وهو يضفى صفات ال Thickening، الـــ Binding إذا أضيف إلى الأغذية التى لا يتم طحـــنها مـــثل البودنج، ويستخدم هذا النشا المحور فى تجهيز أغذية الأطفال وفى أغراض الخبيز.

٥- نشا **Thin boiling starch**

يـــؤدى التحلـــيل الحامضى الجزئى إلى إنتاج نشا لا يذوب فى الماء الـــبارد ولكنه يكون قابلاً للذوبان فى الماء المغلى ويكون المحلول منخفض اللـــزوجة بالمقارنـــة بالنشـــا غيـــر المعامـــل، كمـــا أن ظاهـــرة الجلـــد retrogradation تكـــون بطيئة، وتستخدم هذا النوع من النشا كمواد ثخانة Thickeners وكمواد واقية protective films.

٦- ايثرات النشا **Starch ethers**

عندما يتفاعل ٣٠ ٤٠% من معلق النشا مع ايثيلين أكسيد ethylene oxide أو بـــروبيلين أكســـيد propylene oxid فى وجود وسط قلوى رقم الـــــpH مـــن ١١ ١٣ فإنه تتكون مشتقات هيدروكسى ايثيل أو مشتقات هيدروكســـى بـــروبيل ويمكـــن التحكم فى درجة الاستبدال بضبط ظروف التفاعل. ويتميز هذا النوع بخواص انتفاخ جيدة وكذلك قابلية للذوبان بدرجة عالـــية، كمـــا أن انخفاض درجة حرارة الجلتنـــة يزيد من ثبات النشا الناتج أثـــناء التجمـــيد، ويستخدم هذا النوع من النشا كمواد ثخانة thickener فى الأغذيـــة المبردة والأغذية المعلبة المعاملة بالتعقيم. كما أن تفاعل النشا مع المونوكلـــورو استيك أسيد فى وسط قلوى يؤدى إلى تكوين كربوكسى ميثيل نشا Carboxymethyl starch ويستخدم كمواد ثخانة thickener وكمواد مكونة للجيل gel forming agents.

٧- استرات النشا **Starch esters**

عندما يسخن النشا تسخينا جافا مع أحادى فوسفات صوديوم أو ترى بيروفوسفات القلوى على درجة ١٢٠ ١٧٥°م تنتج استر مونو فوسفات النشا.

كما يمكن إنتاج استرات النشا للأحماض الدهنية ذات سلسلة كربونية ك٦...٢٦ وذلك بتسخين النشا مع الأحماض الدهنية الحرة أو أملاحها.

وتستخدم استرات النشا كمواد محسنة ومثبتة وكمواد thickener فى منتجات المخابز، مساحيق الحساء، الصلصلة، البودنج، الأغذية المبردة، الأغذية المعلبة المعاملة حراريا، كذلك يستخدم كمواد مغلفة واقية protective coating فى الأغذية المجففة.

٨- النشا المحور بالروابط العرضية **Cross Linked Starch**

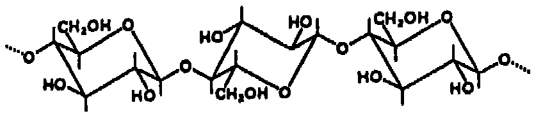
يمكن الحصول على هذا النوع من النشا بالتفاعل مع جواهر كشافة مثل صوديوم تراى ميتا فوسفات أو أوكس كلوريد الفوسفور أو ابيكلورو هيدرين أو مخلوط من أستيك انهيدريد مع أحماض داى كربوكسيل. وذلك فى وجود قلوى كعامل مساعد ويؤدى هذا التفاعل إلى الحيلولة دون حدوث تجزىء لحبيبات النشا المطبوخة والمنتفخة وبالتالى الإبقاء على اللزوجة مرتفعة في الوسط الحامضي وتحت قوة قص Shear force معينة.

٩- النشا المحور بالأكسدة **Oxidized Starch**

يمكن معاملة محلول النشا المعلق بمادة صوديوم هيبوكلوريد المؤكسد. على درجة حرارة أقل من درجة حرارة الجلتنة. والمنتج المتحصل عليه يحتوى على مجموعة كربوكسيل لكل ٢٥ ٥٠ وحدة جلوكوز، كما يلاحظ أن هذه المعاملة تقلل من اللزوجة وتزيد من درجة صفاء العجينة.

ويستخدم هذا النوع من النشا كمادة مغلظة للقوام الخفيف فى زيوت السلاطة Salad dressing وفى المايونيز mayonnaise كما يستخدم كمادة مثبتة للمستحلبات Emulsion stabilizer.

السليلوز Cellulose



شكل (١٠) : التركيب البنائى للسليلوز Cellulose

يعتبر السليلوز هو المكون الأساسى لجدر الخلايا النباتية والتى يتواجد مع الهيمى سليلوز والبكتين واللجنين. ونظرا لعدم وجود إنزيمات السليلولاز فـــى الجهاز الهضمى فى الإنسان فإن السليلوز مع بعض السكريدات العديدة الأخرى تكون صعبة الهضم وتعمل كألياف غذائية والتى تحافظ على حركة الأمعاء فى الإنسان.

ويتـــركب الســـليلوز مـــن وحـــدات بيـــتـــا جلوكوبيـــرنـــو ســـيل β- glucopyranosyl تـــرتبط بـــرابطة 4→1 B، ويمكـــن لمجامـــيع الهيدروكســـيل الموجـــودة علـــى أطوال السلاسل تكوين روابط هيدروجينية بســـهولة ممـــا يؤدى إلى إضفاء سمة البللورية على الجزىء بدرجة معينة والمـــناطق البللورية تكون ذات قدرة محددة جدا لامتصاص الماء كما تؤدى عملـــية تسخين محاليل السليلوز إلى نقص الروابط الهيدروجينية التى يكونها الجزىء وكذلك انتفاخ السلاسل بدرجة أكبر بسبب نقص المحتوى البللورى.

ويلاحـــظ أن تجفيف الأغذية المحتوية على سليلوز مثل الخضراوات يـــؤدى إلى زيادة الخشونة Toughness وتقليل المطاطية plasticity وقوة الانـــتفاخ swelling power. ونظـــرا لارتفـــاع الوزن الجزيئى والتركيب

الـــبللورى فإن السليلوز غير قابل للذوبان فى الماء وتقل القابلية للامتصاص والذى يتوقف جزئيا على مصدر السليلوز.

يســـتخدم الســـليلوز فى تجهيز الأغذية المنخفضة السعرات وفى الـــ Salad dressing والأيـــس كـــريم ويمكـــن زيـــادة كفاءة التشرب المائى والقابلـــية للانتشـــار بإضافة السليلوز مع كميات بسيطة من كربوكسى ميثل سليلوز.

وتـــوجد مشـــتقات للسليلوز مثل ميثيل هيدروكسى بروبيل سليلوز ميثـــيل ايثـــيل ســـليلوز كربوكسى ميثيل سليلوز، وهذه المشتقات تستخدم كمثبـــتات للمســـتحلبات وتحسن قوام الرغوة مواد رابطة ومحسنة للقوام لكثير من المنتجات الغذائية وتحسن خواص الثبات والاسترجاع والتشرب للأغذية المجففة.

السكريات العديدة الأخرى

١- البكتـــين: بوليمـــر واسع الانتشار فى النباتات وينتج تجاريا من قشـــور الموالح حيث تصل محتوى القشور حوالى ٢٠ ٤٠% على أساس الوزن الجاف يتركب البكتين من وحدات ألفا جلاكتورونيك ترتبط برابطة $\alpha 1 \rightarrow 4$ ما يحتوى الجزىء على سلاسل من سكر المانوز وكميات بسيطة مـــن arabinan , D- galactan كما ترتبط مجاميع الكربوكسيل فى سلسلة حمـــض الجلاكورونيك مع مجاميع ميثيل برابطة استرية. والبكتين ثابت فى مـــدى من رقم الحموضة ٣ ٤ ويستخدم البكتين لتكوين الحالة الجيلية فى الجيلى والمرميلاد، كما يستخدم كمواد مثبتة فى المشروبات.

٢- الأجار: يعتبر الأجار مخلوط من مركبات غير متجانسة معقدة من الســـكريات العديدة والمركبات الأساسية فيها هى 3,6 anhydro α galactopyranose , β D- galactopyranose ويتميـــز الأجار بأنه غير قابـــل للـــذوبان فى الماء البارد، قابل للذوبان بدرجة بسيطة فى الايثانول أمين ولكـــنه يـــذوب فى الفورماميد formamide يترسب بواسطة الايثانول يذوب فى الماء الساخن يكون جل عند التبريد له نشاط استحلابى ومثبت.

٣- **الألجينات:** يتركب من وحدات سكر β-D- mannuronic وسكر α-L-gnluronic تـــربط بـــروابط 4 ⟵ 1 والألجينات بوليمر ذو سلاسل مســـتقيمة ويـــذوب فى الماء إذا كان فى الصورة القاعدية (أى فى صورة أملاح) وتتأثر اللزوجة المتحصل عليها بالوزن الجزيئي، وعدد أيونات الملح فـــى الألجينات، ومن أهم المشتقات للالجينات هو بروبيلين جليكول الجينات ويكون جيل طرى ومطاطى وأقل هشاشة.

وتســـتخدم الألجينات كمواد مكونة للجل ومثبتة ومواد ثخانة أو مغلظة للقـــوام وعـــند إضافتها بتركيز. ٢٥. . ٥٠.% تحسن قوام منتجات المخابز ومنـــتجات الألـــبان بالشـــيكولاتة تمنع تكوين البللورات الثلجية الكبيرة فى المـــثلجات القشـــدية خلال التخزين. كما أنها تستخدم فى عمل البودنج وجل الفواكه وتعمل على تحسين وثبات الرغوة فى عصائر الفاكهة.

٤- **الكاراجايـــنات Carrageenans:** وهـــى مخلـــوط معقـــد من سكريدات عديدة مختلفة، وتوجد عدة مشتقات من الكاراجينات أهمها الصورة α carrageenan والصـــورة λ carrageenan وتتكون الصورة الأولى مـــن مخلوط D- galactose ، ٦,٣ انهيدرو جلاكتوز واستر سلفات بنسبة ٦: ٥: ٧. وتزداد القابلية للذوبان فى الماء بزيادة محتوى الكاراجينان من السلفات وانخفاض محتواها من انهيدروجلاكتوز، وتعتمد اللزوجة المتحصل علـــيها علـــى عدة عوامل منها نوع الكاراجينان الوزن الجزيئى درجة الحرارة وجود أيونات تركيز الكاراجينان.

ويســـتخدم الكاراجينـــتان فى التصنيع الغذائى ويتوقف ذلك على مدى القابلية لتكوين جل وزيادة لزوجة المحلول وتحسين ثبات المستحلبات.

٥- **الصمغ العربى Gum arabic**

الصـــمغ العربى عبارة عن إفراز أشجار الاكاسيا وهو عبارة عن ملح مـــتعادل أو حامض ضعيف لمعقد سكر عديد يحتوى على أيونات الكالسيوم والماغنسيوم والبوتاسيوم ويتركيب الجزىء من سكريات الارابيوز والراموز والجلاكتوز وحمض الجلوكويورنيك.

ويستخدم الصمغ كمادة مانعة للتبلور وكمستحلب ويكون محاليل غروية لزجة وكمادة مثبتة فى منتجات المخابز ويمنع فصل الدهون فى منتجات الحلوى كما أنه يستخدم لتحسين ثبات الرغوة فى المشروبات.

تحليل الكربوهيدرات Carbohydratcs analysis

يعتمد تحليل الكربوهيدرات مثل أى عنصر غذائى آخر على ثلاث خطوات رئيسية تتلخص فى:

١- الاستخلاص Extraction.

٢- التفاعل والتقدير Reaction and determination.

٣- حساب النسبة المئوية Calculation

وأيضا مثل باقى المكونات الغذائية فإن التحليل يشمل نوعى التحليل الوصفى Qualitative analysis ويعنى التعرف على نوعية الكربوهيدرات بمشتقاتها المختلفة وتحديد نوع السكريات الموجودة بالعينة المختبرة وهل هى أحادية التسكر أو أوليجو أو عديدة، وهل هى الدهيدية أو كيتونية، وهل هى من النوع L- saccharides أو النوع D-saccharide وهل هى بيرانوز أو فيرانوز إلخ.

كذلك التحليل الكمى Quantitative analysis ويعنى تحديد وتقدير نسبة وتركيز العنصر الغذائى فى العينة المختبرة.

وتحليل الكربوهيدرات يعنى:

١- رسم صورة كاملة للكربوهيدرات فى العينة المختبرة من حيث تحديدها وصفيا وكميا.

٢- تتبع ودراسة التغيرات التى تحدث فى الكربوهيدرات وذلك فى الأغذية الطبيعية أو المصنعة سواء قبل أو بعد أو أثناء التخزين.

٣- كشف غش أو خلط الأغذية بالمواد الكربوهيدراتية.

٤- كشف مدى صلاحية الأغذية المحتوية على الكربوهيدرات ومشتقاتها للاستهلاك الآدمى ومدى تطبيق القوانين والتشريعات الغذائية والخاصة بالمواصفات القياسية.

تجهيز العينة واستخلاص الكربوهيدرات

Sample preparation and carbohydrates extraction

يعتمد تجهيز العينات لتقدير المواد الكربوهيدراتية فيها، على نوع المادة الغذائية المختبرة ونوع المواد الكربوهيدراتية المراد تحليلها وتقديرها. وذلك نظرا لطبيعة المكونات المختلفة والتى تكون مصاحبة للكربوهيدرات فى مصادرها الطبيعية كذلك التى تداخل هذه المواد المصاحبة فى التقدير.

وعموما فإنه يجب تجفيف العينة الغذائية قبل تقدير الكربوهيدرات فيها ويفضل استخلاص الكربوهيدرات فى العينات التى تم تقدير المحتوى الرطوبى فيها، وبعد تجفيف العينة يجب استخلاص المواد الليبيدية منها باستخدام مذيب عضوى (بترووليوم ايثير أو هكسان أو مخلوط من الكلورفورم والميثانول) حيث إن التخلص من الدهون يسهل من عملية استخلاص المواد الكربوهيدراتية.

ويتم استخلاص الكربوهيدرات البسيطة بواسطة محلول ايثانول ٨٠% ساخن مع كمية بسيطة من كربونات الكالسيوم تكون كافية لمعادلة الحموضة التى قد تكون موجودة بالعينة، ويتم الاستخلاص بإضافة محلول ٨٠% ايثانول إلى العينة فى دورق معيارى فى حمام مائى، وقد تجرى العملية على دفعات باستخدام جهاز سوكسلت وتجميع الراشح فى دورق معيارى ويكمل الحجم بواسطة الكحول، أما فى الحالة الأولى فإنه يرشح ويستبعد الراسب. ويلاحظ أن الراشح أو المستخلص الكحولى للكربوهيدرات يحتوى على بعض المكونات الأخرى مثل العناصر المعدنية القابلة للذوبان: الصبغات، الأحماض العضوية، والأحماض الأمينية الحرة وبعض الببتيدات المنخفضة الوزن الجزيئى. ونظرا لأن السكريدات الاحادية والاوليجوسكريدات متعادلة بينما المواد المصاحبة لها تكون عادة مشحونة فإن هذه المواد يمكن التخلص منها واستبعادها بطرق الفصل بالتبادل الأيونى Ionexchange.

وكما سبق فإن المستخلص الكحولى للمواد الكربوهيدراتية تحتوى على بعـض المواد المصاحبة التى قد تؤثر فى تقدير السكريات بالطرق المختلفة، فهـناك المواد الملونة أو الصبغات والتى قد تتداخل مع الضوء النافذ خلال المحلـول عـند اسـتخدام الطـرق البولاريميتـرية. وهناك أيضا التانينات والجليكوسـيدات والأحماض الأمينية التى تظهر نشاطاً ضوئياً وتتداخل مع التقدير المطلوب.

وهناك الأحماض العضوية والأملاح التى تتداخل مع الدوران النوعى Specific rotaition، كـذلك هناك المواد الغروية مثل البروتينات التى قد تعـيق تكوين راسب أكسيد النحاسوز فى طرق التفاعلات المختزلة، كما أن الطرق الحجمية أكثر حساسية لهذه المواد من الطرق الوزنية.

وعلـى ذلك لا بد من إجراء عملية تنقية وترويق المستخلصات المواد الكربوهيدراتية واستخدام عوامل الترويق Clarifying agents وهناك مواد كثيـرة تستخدم كعوامل ترويق مثل كريم الألومينا alumina cream الذى يستخدم غالبا فى المنتجات الغذائية عالية النقاوة كذلك المنتجات التى تحتوى علـى تركيـزات عالـية مـن الفـراكتوز مثل عسل النحل، وهناك خلات الرصـاص المـتعادلة neutral lead acetate التـى تستخدم للتخلص من حمـض التانـيك tannic acid ومـن الأحمـاض العضـوية والبكتينات والفلافـونات وخلات الرصاص القاعدية Basic lead acetate التى تقوم بتجميع الغرويات وترسيبها، كما تقوم بادمصاص المواد الملونة ولكنها تسبب قلـوية للمحلـول ممـا يؤثر على السكريات المختزلة وبالتالى التأثير على الـدوران النوعى لهذه السكريات، وخلات الرصاص القاعدية الجافة Dry basic lead acetate وهـى تضـاف فى صورة مسحوق إلى المستخلص السـكرى وتكـون أكثر فاعلية بالمقارنة إلى خلات الرصاص المتعادلة كما تـوجد عوامل ترويق أخرى مثل حديدى سيانيد الزنك الذى يحضر من خلط حجمين متساويين من محلول خلات الزنك ومحلول حديدى سيانيد البوتاسيوم وهـو عامل ترويق جيد. كذلك هناك الفحم المنشط activated charcoal وهـو عامـل فعـال ويسـتخدم فقط فى التحليلات النوعية Qualitative

analysis ونظـــرا لـــتداخل أملاح الرصاص مع تقدير السكريات بالطرق المخـــتلفة فإنـــه يجـــب الـــتخلص من الرصاص بإضافة أكسالات بوتاسيوم أو صـــوديوم لترســـيب الرصاص الزائد فتحصل على محلول رائق شفاف يمكن الحصول عليه بإجراء عملية ترشيح، ويستخدم الراشح المتحصل عليه فى إجراء التفاعلات الخاصة بتحليل المواد الكربوهيدراتية.

ويمكن استخلاص السكريات البسيطة بالماء المقطر سواء على البارد أو الساخن حيث يضاف وزنة من العينة الغذائية المختبرة مع حجم من الماء المقطـــر فى دورق معيارى (تتوقف سعته على التركيز المتوقع من السكر فى العينة)، يضاف إلى الدورق كمية بسيطة من خلات الرصاص القاعدى مـــع الـــرج الجـــيد ثـــم الترشيح وإضافة أكسالات البوتاسيوم للتخلص من الرصـــاص الـــزائد ثـــم الترشيح للحصول على محلول رائق شفاف، وهذه الطـــريقة ســـهلة وبســـيطة، ولكن يعاب عليها أن الاستخلاص بالماء يسمح بنشاط الإنزيمات المحللة.

تقدير الكربوهيدرات الكلية

تتأثـــر الكربوهيدرات بالحرارة والحامض ولهذا فهى حساسة للأحماض القوية ودرجات الحرارة العالية، وتحت هذه الظروف فإنه تحدث مجموعة من التفاعلات المعقدة تبدأ بتفاعل نزع جزيئات ماء، وباستمرار التسخين فى وجود الحـــامض المركز تتكون مشتقات الفيوران Furan derivatives التى تتكثف مـــع بعضها ومع مكونات أخرى لتتكون مركبات بنية وسوداء كما أنها تتكثف مـــع المـــركبات الفينولـــية مـــثل الفينول Phenol، والفا نافثول α-naphtol والاورسينول Orcinol كذلك تتكثف مع المركبات المحتوية على نيتروجين.

وأكثـــر التفاعلات شيوعا هو تفاعل التكثيف مع الفينول وهذه الطريقة بسيطة وسريعة وحساسة ودقيقة ومتخصصة للكربوهيدرات، كما أنها شائعة الاســـتخدام لتقديـــر الكـــربوهيدرات الكلـــية بما تشتمل من سكريات أحادية واوليجو وعديدة حيث أن الاوليجو سكريدات وكذلك السكريات العديدة تتحلل فـــى وجـــود التسخين والحموضة المركزة متحولة إلى سكريات أحادية، كما تتميز الطريقة بأن الجواهر الكشافة متوافرة ورخيصة وثابتة، كما يتكون فى

التفاعل لون ثابت وتعتبر حدود الدقة والثقة فى الطريقة بما يوازى ٢% ويقاس شدة اللون المتكون بالطرق الاسبكتوفوتومتريه على طول موجى ٤٩٠ نانومتر، كما يمكن حساب تركيز السكر فى العينة من استخدام منحنى قياسى Standard curve من تفاعل تركيزات متدرجة من محلول جلوكوز قياسى مع الفينول فى وجود حمض كبريتيك مركز بحيث تكون التركيزات المستخدمة من محلول الجلوكوز فى حدود تركيز العينة المختبرة المراد قياس تركيز السكر فيها، ويلاحظ أنه إذا كانت تركيزات المنحنى القياسى فى مدى أعلى من التركيز المتوقع فى العينة المختبرة. يمكن إجراء التخفيف المناسب.

وتقسم الطرق العامة لتقدير المواد الكربوهيدراتية إلى أربعة أقسام رئيسية هى:

١- الطرق الطبيعية — Physical methods
   أ- تقدير الكثافة — Densitometric methods
   ب- الطرق الضوئية — Optical methods
   ج- الطرق الكروماتوجرافية — Chromatographic methods

٢- الطرق الكيميائية — Chemical methods
   أ- الطرق الاختزالية — Reducing methods
   ب- الطرق اللونية — Colorimetric methods

٣- الطرق الإنزيمية — Enzymatic methods

٤- الطرق الميكروبيولوجية — Microbiological methods

وتعتمد الطرق الطبيعية المستخدمة فى التحليل الوصفى والكمى للكربوهيدرات على استخدام الخواص الطبيعية فى عملية التحليل، فيمكن تقدير الكثافة أو الوزن النوعى للمحلول السكرى بواسطة هيدروميتر الكثافة ثم تحويل قراءات الكثافة إلى درجات تركيز بومية Boume وتحويل الأخيرة إلى ما يقابلها من تركيز البركس Brix أو بالنج Balling وذلك بعلاقات رياضية، كما يمكن استخدام هيدروميتر البركس أو البالنج مباشرة فى قياس تركيز المحلول السكرى حيث إن كل درجة بيركس واحدة أو بالنج تعبر عن تركيز قدره واحد مئوى فى المحلول السكرى.

$$\text{الكثافة النوعية} = \frac{١٤٥}{١٤٥ \quad \text{البوميه}}$$

كل ١ بيركس أو بالنج تعادل ٠,٥٥ بوميه.

وهـــناك طـــرق أخرى تعتمد على خاصية انكسار أو انحراف الضوء خلال منشور زجاجي وبالتالى تعتمد على قوانين الانكسار ومن قراءة معامل الانكســـار بواســطة جهـــاز الرافراكتوميتر وبعلاقات رياضية يمكن حساب تركيـــز المحلول السكرى أو يمكن قراءة التركيز المئوى مباشرة من جهاز الرفراكتومير.

كـــذلك فإن الطرق البولارميترية تعتمد على خاصية استقطاب الضوء وقـــياس الـــدوران النوعى Optical rotation [α] من المعادلة الرياضية التالية:

$$[\alpha] = \frac{a\ 100}{LC} = \frac{a\ 100}{LPd}$$

حيث α هى قيمة زاوية دوران المحلول الذى له كثافة نوعية مقدارها (d) ويحتوى على (P) جرام من المادة النشطة لكل ١٠٠ جرام من المحلول أى التركيـــز (C) فـــى أنـــبوبة طولها (L) ديسيمتر، ويستخدم لذلك جهاز البولارتيمـــر Polarimeter. وتعتمد هذه الطريقة على أساس أن السكر له نشاط ضوئى نتيجة وجود عدم التناسق والذرات غير المتماثلة، وعند مرور الضوء المستقطب خلال المحلول السكرى فإن مساره يتحول إما جهة اليمين فتسمى المادة السكرية بأنها يمينية الدوران Dextro ويرمز لها بالرمز (D) أو العلامة (+)، أو يتحول الضوء جهة اليسار وتسمى المادة السكرية فى هذه الحالة يسارية الدوران Laevo ويرمز لها بالرمز (L) أو العلامة (−).

وتسمى الطرق الرافراكتوميترية والبولارميترية بالطرق الضوئية التى تعتمد على خواص الضوء.

وتعتمد الطرق الكروماتوجرافية Chromatographic methods على فصل المكونات بين وسطين تبعا لمعامل التوزيع الجزيئى. وتشمل هذه الطرق ما يلى:

١- الفصل الكروماتوجرافى الورقى Paper chromatography (PC).

٢- الفصل الكروماتوجرافى على الطبقة الرقيقة Thin layer chromatography (TLC).

٣- الفصل الكروماتوجرافى بالتبادل الأيونى Ion exchange chromatography (IEC).

٤- الفصل الكروماتوجرافى الغازى Gas liquid chromatography (GLC).

٥- الفصل الكروماتوجرافى السائل عالى الكفاءة High performance liquid chromatography (HPLC).

ويعتمد التحليل الكروماتوجرافى الورقى على فصل السكريات المختلفة عن بعضها البعض باستخدام نظام سريان للمذيب فى اتجاه واحد خلال الورق الكروماتوجرافى بفعل الخاصية الشعرية، وقد استخدمت أساليب مختلفة فى السريان، فهناك النظام الهابط descending والصاعد ascending والأفقى horizontal والشعاعى radial وقد أظهر الفصل بنظام السريان الهابط نتائج فصل للسكريات بدرجة أفضل وتستخدم مجموعة سكريات قياسية كمرجع قياسى فى عملية الفصل، ويتم التعرف على نوعية السكريات فى العينات المختبرة إما بحساب قيم R_G (وهى تعنى نسبة سريان المركب المفصول بالنسبة لسريان الجلوكوز) أو بحساب قيم R_F (وهى تعنى نسبة سريان المركب المفصول بالنسبة لسريان المذيب).

وتستخدم الجواهر الكشافة المختلفة للكشف عن السكريات المفصولة وذلك بطريقة الرش Spraying أو الغمر dipping ومن هذه الجواهر نترات الفضة، محلول أيدروكسيد صوديوم مثيانولى، محلول أمونيا مائى، محلول ثيوكبريتات ٥٠% وفينولات كثيرة. كما يمكن التفرقة بين السكريدات

الكيتونـــية والألدهـــيدية بواســـطة جواهـــر كشـــافة معينة مثل مخلوط من 4,3diphenyl 3-P- styryl phenylterazolium chloride فى ايثانول مـــع أيدروكســـيد صـــوديوم. ١٠ ع بنســـبة ١: ١ حيث تعطى السكريدات الكيتونية بقع بنفسجية اللون بينما لا تتفاعل السكريدات الألدهيدية.

وجديـــر بالذكـــر فـــإن قـــيم R_G أو R_F تخـــتلف تبعا لنظم المذيبات المستخدمة فى السريان كذلك ظروف عملية الفصل مثل درجة الحرارة.

ويســـتخدم الفصـــل الكروماتوجرافى الورقى بغرض التحليل الوصفى أو الكمـــى حيث إن عملية فصل السكريات إلى أنواعها المختلفة وحساب قيم R_F لها والتعرف على نوع كل مركب يكون ذلك بمثابة تحليل وصفى للعينة، كمـــا أنـــه يمكن استخلاص المركبات المفصولة (ويمثلها البقع الملونة على الورق الكروماتوجرافى) ثم قياس الكثافة اللونية وتتناسب الكثافة اللونية مع تركيز المركب المفصول.

وفـــى حالـــة الفصل الكروماتوجرافى على الطبقة الرقيقة TLC فإن عملـــية الفصل تتم على طبقة رقيقة من السليكاجيل Silica gel على دعامة زجاجـــية وهـــذا يعطى مقاومة لتأثير الأحماض المركزة وإمكانية استخدام جواهـــر كشـــافة متعددة مقارنة بطريقة الفصل الورقى، وتمر عملية الفصل علـــى الطبقة الرقيقة بنفس النظم والأساليب كما فى الفصل الورقى (سريان المـــذيب، الإظهـــار بالجوهر الكشاف، قياس قيم R_G أو R_F، التعرف على المركبات المفصولة، قياس الكثافة اللونية فى حالة التحليل الكمى).

وفى حالة الفصل بالتبادل الأيونى فإن السكريات عبارة عن الكتروليتات ضـــعيفة وذات ميل ضعيف للتفاعل مع راتنجات التبادل الأيونى ولقد وجد أن المـــركبات عديدة الهيدروكسيل يتفاعل مع أيون البورات وتكون معقدات سالبة الشـــحنة حـــيث اســـتخدمت محالـــيل بورات منظمة متدرجة التركيز ودرجة الحموضة، ولقد أمكن استخدام التبادل الأيونى فى فصل مخلوط من السكريات الأحادية والثنائية والثلاثية باستخدام مبادل كايتونى Dowex so Wx2 (Li^+form)

وفـــى حالة التحليل الكروماتوجرافى الغازى فإنه يعتمد على أن تكون المركبات المراد فصلها طيارة Volatile ولذا فإن السكريات تحول أولا إلى

مشتقات طيارة وثابتة حراريا. ولقد وجد أن مشتقات ثلاثى ميثيل سليل ايثير Tri methyl sliyl ether (TMS) تفــى بهذا الغرض كما أنها مركبات ســهلة التحضير، كذلك يمكن تحضير مشتقات الخلات acetates وايثيرات الميثــيل methyl ether وعملــيا فإن TMS تكون مناسبة لعملية التحليل بدرجــة أفضــل كمــا أنهــا تكــون مشتقاً واحداً، تعطى peak واحد على الكروماتوجــرام لكل سكر، ولقد أوضحت الدراسات أن إجراء عملية تكون مشــتقات السليل Silylatoion لاوكسيمات السكريدات Oximes يؤدى إلى التغلب على مشكلة تعدد المنحنيات peaks للمشابهات الانوميرية.

الطرق الكيميائية Chemical methods

أولا: الطرق الاختزالية Reduction methods

وتعــتمد هذه الطرق على الخواص الكيميائية للسكريات، فهناك طرق تعــتمد على خواص الاختزال للسكريات لأى من الأملاح المعدنية مثل تلك التـــى تحــتوى على أيونات النحاسيك أو الفضة أو البزموت أو الزئبقيك وغيــرها، ويــرجع أساس هذه التفاعلات إلى سحب الأكسوجين من القاعدة المعدنــية، ويترســب الأخير إما فى صورة Oxide أو فى صورة Sub المعــدن نفسه. وأشهر هذه الطرق هى تلك التى تستخدم مركبات النحاسيك كعامــل مؤكســد، حيث يختزل أيون النحاسيك فى الوسط القلوى إلى أكسيد نحاسوز فى صورة راسب أحمر طوبى.

ويمكن تقسيم طرق اختزال أيون النحاسيك إلى نوعين:

أ طرق وزنية Gravimetric method

وفى هذه الطرق يتم تفاعل حجم معين من محلول السكريات المختزلة مع حجم معين من محلول أيون النحاسيك القلوى ويتكون راسب أحمر طوبى تحــت ظروف التسخين والغليان لمدة محددة (٢ ق)، وبعد فصل الراسب بالترشــيح يتم غسيله وتجفيفه ووزنه، ومن جداول خاصة تربط العلاقة بين وزن الراســب المتكون وكمية السكر المختزل يمكن الكشف عن كمية السكر المختــزل فى العينة المختبرة. ومن أكثر الطرق التى تستخدم هذا الأسلوب

طــريقة مانســـون ولكـــر Manson Walker method وهى طريقة موصى بها من كل من الـــ A .O .A .C والـــ ICUMSA.

ويمكـــن تقديـــر وزن أكســـيد النحاسوز بطريقة غير مباشرة كما فى طــريقة شـــيفر وهارتمان Shaffer Hartman method حيث يتم خلط حجـــم محلـــول سكرى مع حجم يكفى للتفاعل وزيادة من محلول النحاسيك القلـــوى ثـــم التســـخين والغلـــيان تحت ظروف قياسية ولمدة محددة فيتكون الراســـب الأحمـــر الطوبى. ثم يتم إجراء تفاعل كيميائى رجعى لتقدير كمية أيون النحاسيك الزائدة (التى لم تدخل فى التفاعل مع السكر المختزل) بإضافة يـــوديد البوتاسيوم وحمض كبريتيك ثم معايرة اليود المنفرد بواسطة محلول ثيوكبـــريتات معلـــوم العـــيارية فـــى وجود دليل نشا كدليل للتفاعل (تقدير ايودومتـــرى Iodometric determination)، وتستخدم هنا تجربة بلانك قياسية لتقدير كمية النحاسيك الكلية وبالتالى يمكن تقدير كمية أيون النحاسيك التـــى اســـتهلكت فـــى التفاعل مع السكر المختزل، ثم عن طريق حسابات المكافـــئات يمكـــن حســـاب وزن النحاسوز المترسب، ومن جداول خاصة (جداول شيفر هارتمان لتقدير السكر المختزل) يمكن حساب وزن السكر المختزل فى العينة.

ب- الطرق الحجمية Volumetric method

وتبنـــى هذه الطرق على إجراء تفاعلات الاختزال بين محلول السكر ومحلول أيونات النحاسيك وذلك بطريقة حجمية، حيث يتم معايرة حجم معين مـــن محلول النحاسيك أثناء التسخين بواسطة محلول السكر المختزل، ثم يتم حســـاب حجـــم المحلـــول السكرى المختزل اللازم لتكوين الراسب الأحمر الطوبـــى مـــن أكسيد النحاسوز مع الاستعانة بدليل أزرق المثيلين، ومن هذا الحجـــم وبجـــداول خاصة يمكن حساب كمية السكر المختزل المقابلة لحجم المحلـــول الســـكرى، وذلك كما هو الحال فى طريقة لين انيون Lane Eynon وفى هذه الطريقة يتم استخدام حجم قدرة ١٠ مل من محلول فهلنج وإذا تـــم تكـــون الراسب الأحمر الطوبى باستخدام حجم محلول سكرى قدره ١٥ مـــل تكون العينة مركزة وفى هذه الحالة يتم استخدام حجم محلول فهلنج

مقـداره ٢٥ مل، وتعتبر طريقة لين انينون إحدى الطرق الرسمية لتقدير السكريات المختزلة كميا فى الأغذية.

وعـند إجـراء طريقة Eynon Lane يستخدم مخلوط من محلول فهلـنج (أ) (كبـريتات نحاسيك) ومحلول فهلنج ب (أيدروكسيد صوديوم وطرطـرات صوديوم وبوتاسيوم)، ويلاحظ أنه عند خلط محلول فهلنج مع حجـم ١٥ مـل مـن المحلول السكرى المختزل والتسخين فإن هناك ثلاثة احتمالات للتجربة.

أ إذا اختفـى اللـون الأزرق لمحلـول فهلنج وظهر اللون الأحمر الطوبـى لأكسيد النحاسوز يضاف حوالى ٥ نقاط من دليل أزرق ميثيليـن، فـإذا اختفـى لونها وظل اللون الأحمر الطوبى مستمرا فى الدورق دل ذلك علـى تركيز العينة، فتعاد التجربة مع حجم ٢٥ مل محلول فهلنج وإذا تكرر ما سبق فإن المحلول السكرى فى هذه العينة شديد التركيز، وهنا يجب إجراء التخفـيف المناسب وإعادة التجربة مرة أخرى بحيث لا يختفى اللون الأزرق لمحلـول فهلنج بعد التسخين ويكمل التنقيط بالمحلول السكرى من السحاحة بحـيث ينزل على دفعات صغيرة وبحيث يختفى اللون الأزرق عند استهلاك حجـم مـن المحلـول السكرى لا يتعدى ٥٠ مل (الجداول المستخدمة فى الحسابات مصممة على أساس استهلاك حجم محلول سكرى مختزل بين ١٥ ٥٠ مل).

ب إذا لـم يختفى اللون الأزرق عند استخدام حجم ١٠ مل محلول فهلنج حتى تمام استهلاك حجم ٥٠ مل محلول سكرى، فإن المحلول السكرى فـى هـذه الحالـة مخفـف التركيـز، وهنا يجب إعادة التجربة منذ خطوة الاستخلاص مع زيادة وزن العينة بالقدر المناسب وإجراء عملية الاستخلاص والترويق ثم إجراء التفاعل مع النحاسيك.

ج إذا لـم يختفى اللون الأزرق عند خلط ١٠ مل محلول فهلنج مع ١٥ مل محلول سكرى والتسخين ثم التنقيط بالمحلول السكرى من السحاحة. حتى يظهر اللون الأحمر الطوبى ويتحول اللون الأزرق لمحلول فهلنج كلية إلـى لـون أحمر طوبى فى الدورق مع الاستعانة بدليل أزرق مثيلين للدلالة

علـــى انتهاء التجربة وبشرط عدم تجاوز حجم ٥٠ مل من المحلول السكرى فى التجربة.

وتجدر الإشارة إلى أنه تحدث تفاعلات كيميائية بين محلول فهلنج (أ) ومحلول فهلنج ب تتلخص فيما يلى:

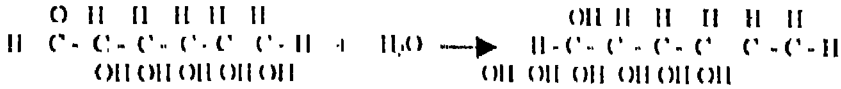
١- تــتفاعل كبريتات النحاسيك (فهلنج أ) مع أيدروكسيد الصوديوم الموجود فى محلول فهلنج ب ويكون أيدروكسيد نحاسيك.

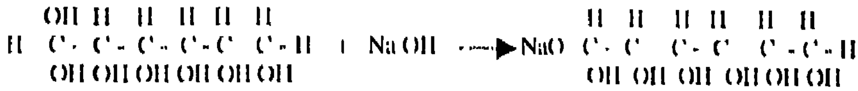
$$Cu\,SO_4 + 2NaOH \longrightarrow Cu\,(OH)_2 + Na_2\,SO_4$$

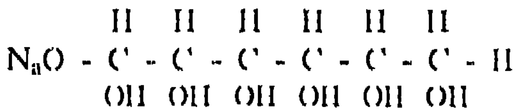
٢- يــتأين جــزء مــن أيدروكسيد النحاسيك فيعطى أيونات نحاسيك وأيونات أيدروكسيل فى نظام متزن.

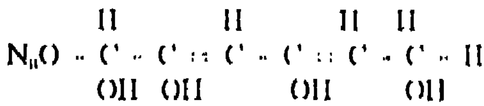
$$Cu\,(OH)_2 \rightleftharpoons Cu^{++} + 2\,OH^-$$

٣- تتفاعل طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم مع أيدروكسيد النحاسيك غيــر الــذائب ويتكون مركب معقد شبه ذائب، ويكون هذا المعقد مصدر إمداد وسط التفاعل بأيونات النحاسيك، بحيث إذا استهلكت أيــونات النحاسيك فى التفاعل مع المحلول السكرى المختزل فإن المــركب المعقد يتفكك وتتحرر أيونات جديدة من النحاسيك. كما تحــدث تفــاعلات وتأثيرات لأيدروكسيد الصوديوم القلوى على المحلول السكرى، حيث يضاف جزىء ماء إلى الرابطة الزوجية فــى المجمــوعة الألدهــيدية ويــتكون مــا يسمى الكحول عديد الهيدروكســيل Polyhdric alcohol. وتكتسب ذرة الأيدروجين الموجودة على ذرة الكربون العديدة الأيدروكسيل صفات حامضية ويحــدث فــيها تــأين بســيط، ويتكون ملح الصوديوم فى وجود أيدروكسيد الصوديوم وهذا الملح غير ثابت ويتكسر بعد ذلك إلى عدة أجزاء نتيجة فقد جزيئين ماء.

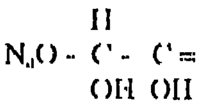




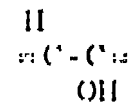




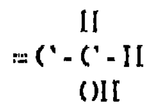
بعد فقد جزيئين الماء من الملح الصوديومي يحدث تكسير في مواضع الـــروابط الـــزوجية وتـــتكون شقوق سكرية عددها خمسة، وتكون الشقوق المحـــتوية علـــى عنصر الصوديوم هي ذات الفعالية في تفاعل الاختزال مع أيونات النحاسيك.



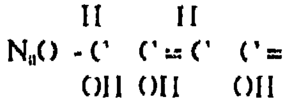
(1)*



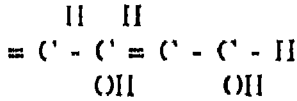
(2)



(3)



(4)*



(5)

وتكـــون الشقوق (1)* , (4)* هى الشقوق السكرية الفعالة فى التقدير مع أيونات النحاسيك ولها قدرة اختزالية عالية جدا.

ومما سبق يتضح تأثير أيدروكسيد الصوديوم القلوى فيما يلى:

١- توفيــر أيونات النحاسيك عن طريق تفاعل كبريتات النحاسيك (فهلنج أ) مع القلوى أيدروكسيد الصوديوم (فهلنج ب).

٢- تكوين الشقوق السكرية الفعالة.

ويخــتلف معــدل الاختزال rate of reduction تبعا لدرجة الحرارة أثـناء التجــربة ويكــون المعدل فى أقصاه عند بدء الغليان كما يتأثر معدل الاختــزال بنوعية السكر المختزل وتركيز القلوى، ويعرف معدل الاختزال بكمــية أيــونات النحاسيك التى تختزل فى وحدة الزمن أو كمية السكر التى تتأكسد فى وحدة الزمن.

كمــا تجدر الإشارة بأن القدرة الاختزالية Reducing power تتوقف علــى مــا إذا كــان المحلول السكرى يضاف على دفعات كبيرة أو صغيرة أو دفعـــة واحـــدة وكذلك على المدة الزمنية التى تنقضى بين إضافة الدفعات وكــذلك درجـــة الحرارة وشدة اللهب. ويقصد بالقدرة الاختزالية بأنها كمية الســكر اللازمة لاختزال حجم معين من محلول فهلنج وذلك تبعا لطريقة لين انــيون أو كمية محلول فهلنج اللازمة لأكسدة وزنة معينة من السكر تبعا لطريقة شيفر وهارتمان.

وهناك طرق اختزالية أخرى تتلخص فيما يلى:

١- طرق تعتمد على اختزال الحديدى سيانيد فى الوسط القلوى إلى حديدو سيانيد ويتأكسد السكر إلى الحمض الالدونى المقابل.

$$R \quad CHO + Fe\,(CN)_6^{-3} \xrightarrow{OH^-} R\text{-}CooH + Fc\,(CN)_6^{-4}$$

وقــد يقــدر أيــون الحديدى سيانيد المتبقى من التفاعل سواء بالطرق الحجمــية مــن خلال المعايرة بمحلول قياسى من كبريتات السيريك Ciric sulfate أو تقدير بطرق ايودومترى بواسطة ثيوكبريتات صوديوم فى وجود دليل النشا، وقد يقدر بطرق اسبكروفوتومترية وقياس الكثافة اللونية لمحلول حديــدى السيانيد الأصفر المتبقى بدون تفاعل، حيث إن التناسب عكسى بين

شـدة اللون الأصفر وتركيز السكر، لأن محلول الحديد وسيانيد المتكون فى الـتفاعل عديم اللون. وفى هذه الحالة يستخدم منحنى قياس يمثل العلاقة بين تركيز السكر وكثافة اللون الأصفر.

٢- طـرق تستخدم اليود فى وسط قلوى كعامل مؤكسد وهذه الطرق تعـتمد على أن اليود فى الوسط القلوى يتحول إلى هيبو ايوديد. وهذا الأيون تحـت ظـروف معينة يمكنه أكسدة السكريدات الألدهيدية دون الكيتونية إلى الأحماض الألدونية المعاملة.

وباستخدام القياسات الأيودومترية وتقدير كمية اليود الزائد عن التفاعل وتقدير كمية اليود الكلى يمكن حساب كمية اليود المستهلك فى عملية الأكسدة وبالتالى حساب كمية السكر المختزل.

٣- طـرق تسـتخدم بعـض المركبات العضوية كعامل مؤكسد وهذه الطـرق تعـتمد علـى أن هناك عديدا من المركبات العضوية يمكنها أكسدة السكريدات المختزلة فى الوسط القلوى على الساخن إلى الأحماض الالدونية المقابلـة وتختـزل هى إلى مركبات ملونة يمكن قياس كثافة اللون بالأجهزة اللونـية ومـثال هـذه المـركبات حمـض البكـريك ، مركب ٣، ٥ داى نيتروساليسليك أسيد.

ثانيا: الطرق اللونية Colorimetric methods

تعـتمد هذه الطرق على تكون معقد ملون من الكروموجين الناتج من السـكر مـع جواهـر كشافة معينة وعادة ما تكون هناك علاقة طردية بين تركيـز السـكر وشدة اللون المتكون ويمكن قياس كثافة اللون بأجهزة قياس الألوان، ومن منحنيات قياسية يمكن حساب تركيز السكر فى العينة المختبرة، وهـناك مـن الطرق اللونية التى تعتمد على إجراء تجفيف للسكر الأحادى بواسـطة حمـض هيدروكلوردريك مع التسخين حيث تفقد ثلاثة جزيئات ماء مكونة الفيورفيورال Furfural ومشتقاته، ثم يحدث تفاعل تكثيف مع بعض المـركبات الفينولية أو الأمينات العطرية وتعطى مركبات ملونة يمكن معها قياس الكثافة اللونية.

والجـدول رقم (١٤) يوضح أنواع الجواهر الكشافة المختلفة وظروف التفاعل لتكوين المعقدات الملونة للكربوهيدرات.

جدول (١٤): الظروف المختلفة لتكوين المعقدات الملونة للكربوهيدرات

الجوهر الكشاف	الحمض المستخدم	قوة الحمض في وسط التفاعل (%)	الزمن بالدقائق	درجة الحرارة (مئوية)	السكرات المتفاعلة	لون المعقد الناتج	طول موجة أقص امتصاص nm
أندول	H_2SO_4	٦٨	١٠	١٠٠	كل السكريات	بني ويختلف علي حسب نوع السكر	٤٧٠
ألفا نافثول	H_2SO_4	٨٠	٣	١٠٠	كل السكريات	أرجواني	٥٥٠ للبنتوزات ، ٥٧٠ للهكسوزات ، ٥٦٠ للميثايل بنتوزات
تريبتوفان	H_2SO_4	٦٧	٢٠	١٠٠	كل السكريات	بنفسجي بني	٥٠٠
سستينين	H_2SO_4	٨٠		الغرفة	كل السكريات	أصفر	٣٩٠ للبنتوزات ، ٤٦٣ للهكسوزات ، ٤٠٠ للميثايل بنتوزات
أنثرون	H_2SO_4	٦٧	١٦	١٠٠	هكسوزات بنتوزات	أزرق	٦٢٥
ثنائي فينايل أمين	Hcl / acetic	٦٧	١٠	١٠٠	كيتوزات الدوزات	أزرق	٦٣٥
ريزورسينول	HCl	١٠	١٠	٨٠	كيتوزات الأخري	أرجواني	٥١٥
كاربازول	H_2SO_4	٨٠	١٠	١٠٠	كل السكريات	أرجواني بني	٥٢٥ للبنتوزات ، ٥٣٥ للهكسوزات ، ٤٩٠ للهيتوزات
كازبازول	H_2SO_4-borate	٨٧	٢٠	١٠٠	احماض بورينية	أرجواني	٥١٥
اورسينول	HCl	١٨	٤٥	١٠٠	بنتوزات هكسوزات	أخضر	٦٧٠
فينول	H_2SO_4	٧١	٣٠	الغرفة	كل السكريات	أصفر بني	٤٩٠ للهكسوزات ، ٤٨٠ للبنتوزات واليورينيك والميثايل بنتوزات

ثالثا: الطرق الإنزيمية Enzymatic methods

تعتبر الطرق الإنزيمية متخصصة لدرجة شديدة بحيث يمكن تقدير أحد مشابهات السكر في وجود المشابه الآخر، وتستخدم الطرق الإنزيمية فى تقدير السكريات الأحادية كميا عندما يكون مطلوبا درجة عالية من التخصص والتى لا يمكن تطبيقها بالطرق الأخرى (الطبيعية أو الكيميائية)، وتتأثر التفاعلات الإنزيمية بعدة عوامل مثل تركيز المادة المتفاعلة (السكر المراد تقديره)، تركيز الجواهر الكشافة المستخدمة، رقم الحموضة، درجة الحرارة أثناء التفاعل، درجة النقاوة.

وتستخدم إنزيمات التحلل المائى للكربوهيدرات فى دراسة تركيب الاوليجو سكريدات حيث تقوم بتحليل الرابطة الجليكوزيدية بين وحدات السكريات الأحادية، ويتم اختيار الإنزيم المستخدم فى التحليل حسب طبيعة الرابطة الجليكوسيدية المراد تحليلها.

والجدول رقم (١٥) يوضح أمثلة لبعض إنزيمات التحلل المائى للروابط الجليكوسيدية.

جدول (١٥): أمثلة لبعض إنزيمات التحلل المائي للروابط الجليكوسيدية

Hydrolysing enzyme	Glycosidic linkage	Trivial name of substrate	Hydrolysis products
β-Galactosidase (EC 3.2.1.23)	β (1 → 4)	Lactose	D-Galactose, D-glucose
α	α (1 → 4)	Maltose	D-Glucose, D-glucose
β-Fructofuranosidase (EC 3.2.1.26)	β (1 → 2)	Sucrose	D-Glucose, D-fructose
α Galactosidase (EC 3.2.1.22)	α →	Melibiose	D-Galactose, D-glucose
Amyloglucosidase (EC 3.2.1.3)	α → α →	Glycogen	D-Glucose
Cellulase (EC 3.2.1.4)	B (1 → 4)	Cellulose	D-Glucose

وفـــيما يلـــى بعـــض الأمثلة التى توضح استخدام الإنزيمات كأدوات تحليلية لتقدير السكريدات.

١- يستخدم إنزيم الجلوكوز أكسيديز Glucose oxidase (GO) فى تقديـــر الجلوكوز حيث يقوم الإنزيم بأكسدة الجلوكوز إلى حمض جلوكونيك وينـــتج فـــوق أكســـيد هيدروجـــين H_2O_2 الـــذى يتحلل فى وجود إنزيـــم البيروكســـيديز Peroxidase إلـــى مـــاء وأكســـوجين ذرى، يـــتم استقبال الاكســـوجين الـــذرى فى مادة فينولية مثل الجواياكول أو البيروجالول التى تتحول إلى مركب كيتونى ملون يمكن قياس كثافة لونه. ويعمل الإنزيم على الصورة بيتا جلوكوز.

$$\text{B D glucose} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{GO}} \text{D-gluconic acid} + H_2O_2$$

ويجب أن يكون إنزيم الجلوكوز أكسيديز على درجة عالية من النقاوة والا يكـــون مصاحباً له إنزيم الكتالز Catalase الذى يعمل على مادة فوق أكسيد الأيدروجين وبالتالى يحدث تداخل فى التقدير ويكون ذلك من مصادر الأخطاء. كما يمكن تقدير فوق أكسيد الأيدروجين بطرق أخرى مثل الطرق المانومترية manometeric باستخدام جهاز واربرج Waarburg.

٢- يســـتخدم إنـــزيم الجلوكـــوز ديهيدروجينيـــر Glucose dehydrogenase فـــى تقديـــر الجلوكوز حيث يقوم بنزع الهيدروجين من البيتا جلوكوز الذى يتحول إلى جلوكونو لاكتون وينتقل الهيدروجين إلى أحد المعاونـــين الإنـــزيمين NAD^+ , $NADP^+$ وتقدر كمية المعاون الإنزيمى المختزل بقياس الامتصاص الضوئى على طول موجة ٣٤٠ نانومتر.

$$\text{B-D-glucose} + NAD^+ \xrightarrow[\text{Dehydrogenase}]{\text{Glucose}} \text{D-gluconolaaclone} + NADH.H^+$$

(λ max 340)

٣- يستخدم إنزيم الهكسوكينز Hexokinase فى تقدير الجلوكوز على أســـاس فســـفرة الجلوكـــوز منتجا جلوكوز ٦- فوسفات فى وجود (ATP) Adinosin Tri Phosphte كمعطـــى للفوسفات وأيونات ماغنسيوم كمنشط كمـــا يـــتم اختـــزال $NADP^+$| بواســـطة إنزيم Glucose 6- phosphate

dehydrogenase، فالـــزيادة فـــى تركـــيز الجلوكـــوز يصـــحبها زيادة فى الامتصاص على طول موجة ٣٤٠ نانومتر وبذلك تكون العلاقة طردية.

$$\text{Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Hexokinase}} \text{Glucose ٦- phosphate (G-٦-P)} + \text{ADP}$$

$$\text{G-٦-P} + \text{NADP}^{+} \xrightarrow{\text{G-٦PDH}} \text{٦- phospho gluconate} + \text{NADPH.H}^{+}$$

٤- يمكـــن تقدير الفركتوز فى وجود الجلوكوز وفى هذه الحالة يقدر الجلوكوز أولا كما سبق ثم يضاف إنزيم phospho glucose isomerase لـــتحويل الفراكتوز ٦ فوسفات إلى جلوكوز ٦- فوسفات ثم يقدر الجلوكوز الكلـــى (الجلوكوز الأصلى والمحول) ثم يحسب الفرق بين التقديرين لحساب الفراكتوز.

٥- يقـــدر اللاكتوز (أوليجو سكريد) بتحليله مائيا بواسطة إنزيم بيتا جلاكتوســـيديز الـــذى يحلـــل الرابطة الجليكوسيدية ٤ ← ١ B ثم يتم تقدير السكر الأحادى جلوكوز أو جلاكتوز كما سبق.

ونفـــس الأســـلوب يتبع مع سكريات أوليجو أخرى مثل المالتوز الذى يـــتحلل بواسطة إنزيم الفا جلوكوز سيديز والسكروز الذى يتحلل بواســـطة إنزيم الانفرتيز.

٦- تســـتخدم إنـــزيمات الدياســـتيز Distase فى تحليل النشا منتجة جلوكوز الذى يمكن تقديره بأى من الطرق المناسبة.

تحليل وتقدير الأوليجو سكريدات

يعـــتمد تقدير الأوليجو سكريدات على إجراء تحليل مائى بطريقة كمية Quantittive hydrolysis إلـــى مكوناتـــه الرئيســـية وهـــى الجلوكـــوز والفراكـــتوز ويســـمى السكر الناتج بالسكر المحول invert sugar وتسمى عملـــية التحليل inversion، ثم يتـــم تقدير السكر المحول بأى من الطرق الســـابق الإشارة إليها مع ملاحظة تقدير السكر المختزل الأحادى فى العينة قـــبل إجراء عملية التحليل المائى وبضرب النسبة المئوية للسكر المحول فى معامل التحويل ومقداره. ٩٥. ينتج كمية السكروز مثلا.

وتقسم طرق التحليل إلى:

١- تحليل إنزيمى باستخدام الإنزيم المناسب تبعا لنوعية الأوليجوسكريد فى العينة.

٢- تحليل حامض acid hydrolysis حيث تستخدم الأحماض القابلة للذوبان فى الماء وهذه تنقسم إلى قسمين:

أ تحليل حامض قوى Hard inversion وفيه يستخدم حامض معدنى مثل الأيدروكلوردريك كثافته ١,١٠٢٩ جم / سم٣ بما يعادل تركيز ٦ عيارى مع التسخين على ٦٧°م لمدة خمس دقائق. وتسمى هذه الطريقة بطريقة شرفيليد Schriefeld.

ب- تحليل حامض هادى Mild inversion حيث تستعمل أحماض معدنية مخففة بتركيز ١% على درجة ٨٠م أو أحماض عضوية مثل الأكساليك بتركيز. ٥% على درجة ١٠٠°م لمدة ٤٠ دقيقة (طريقة عبد الأخر).

البروتينات فى الأغذية Proteins

تعتبـــر الأحماض الأمينية، البتيدات والبروتينات من المكونات المهمة للأغذيـــة. حـــيث تمد الجسم بما يحتاجه لتخليق البروتينات وبالإضافة لذلك فإنهـــا تعتبـــر مســـئولة بصورة مباشرة عن نكهة الغذاء ومركبات الأروما والمركبات اللونية المتكونة أثناء التفاعلات الحرارية والأنزيمية التى تحدث خـــلال إنـــتاج وتخـــزين الأغذيـــة. كما تؤثر البروتينات بصورة فعالة فى الخواص الطبيعية للأغذية من خلال قدرتها على تكوين وثبات الجل، تكوين الرغوة، الإستحلاب والتركيب الليفى.

وتوجد البروتينات بنسبة كبيرة فى الخلايا. وتقريبا فإن كل البروتينات تلعـــب دورا مهما من الناحية البيولوجية والتركيب الخلوى. والموجود منها فـــى الأغذيـــة معقـــد التركيب، العديد منها تم تنقيته والتعرف على تركيبه. وتخـــتلف البـــروتينات فى الوزن الجزيئى والذى يتراوح ما بين ٥٠٠٠ ١٠٠٠٠٠٠ دالتون.

وتـــتكون البـــروتينات مـــن عناصـــر تشمل الكربون والأيدروجين، والنيتـــروجين، والاكسجين والكبريت ويعتبر النيتروجين العنصر المميز فى البـــروتينات وبـــوجه عـــام فإن المحتوى النيتروجينى فى بروتينات الأغذية المخـــتلفة يتراوح ما بين ١٣,٤ ١٩,١% تبعا لاختلاف تركيب الأحماض الأمينية المتخصصة فى تركيب البروتين.

ويوضـــح الجـــدول رقـــم (١٦) معظـــم المصادر المهمة للبروتينات وأسعارها على المستوى العالمى.

جدول رقم (١٦): المصادر المهمة للبروتينات وأسعارها علي المستوي العالمي

Protein source	Protein quantity (million t/a)	Yield (kg h_a)	Price (US$/kg)
Grain	140	200-700	1
Oilseeds	40	500-1200	0.8
Legumes[a]	8.6	200-1000	1
Vegetables[b]	8.3		7
Meat	18	50-200	17
Fish	13		11
Milk	15	50-400	12
Eggs	3		10

a: Without oilseeds. b: Roots and tubers.

وبالإضـــافة إلـــى المصـــادر النباية والحيوانية للبروتينات فإنه يمكن إنـــتاجها بواسطة الطحالب (Chlorella , Scenedesmus , Spirulina Spp.) والخمائـــر والبكتريا (البروتين وحيد الخلية). وعند إنتاج البروتين بواســـطة طحلـــب الــــ Chlorella فإنه يتم استخدام الجلوكوز، المولاس، النشا، ماء نقع الذره الكبريتى، الميثانول. وعندما تنمو الخميرة من جنس الــــ Candida على البرافينات فإنها تعطى ٠,٧٥ وحدة من البروتين لكل وحدة مـــن الكـــربوهيدرات. كمـــا أن البكتريا من نوع الــــ Pseudomonas فى محلـــول الأيثانول تعطى ٠,٣ وحدة بروتين لكل وحدة من الكحول. ونظرا لارتفـــاع محتوى الخمائر والبكتريا من حمض النيوكليك (٦ ١٧% على أســـاس الوزن الجاف) فإنه يكون من الضرورى فصل البروتين من الخلايا النامـــية. ويعتمد مستقبل إنتاج البروتين وحيد الخلية على التكلفة والخواص التكنولوجية.

وتحـــدث عملية رفع نسبة البروتين فى الأغذية عن طريق استخلاص البـــروتين المركـــز، أو بالاستخلاص ثم فصل البروتين عن طريق التجمع بالحرارة أو ترسيبه عند نقطة التعادل الكهربى. ويستفاد من البروتين المركز والمعـــزول فـــى رفـــع القيمة الغذائية وتحسين الصفات الحسيـــة للأغذية. ويضـــاف فـــى بعض الأحيان بعد إجراء بعض التعديلات عليه إلى الأغذية التقليدية مثل منتجات اللحوم ومنتجات المخابز.

وتشمل المواد الخام التى يمكن أن يحدث لها تنمية للبروتينات ما يلى:

١- البقوليات: مثل فول الصويا والفاصوليا.

٢- القمح والذرة: والتى تمد بالجلوتين كناتج ثانوى لصناعة النشا.

٣- البطاطس: من السائل المتخلف عن إنتاج النشا ويتم فصل البروتين عن طريق تجمعه بالحرارة.

٤- البيض: ويعامل للحصول على منتجات مختلفة مثل البيض الكامل، بياض البيض وصفار البيض.

٥- اللبن: يمد بالكازين وبروتينات الشرش.

٦- الأسماك: تمد بمركز البروتين بعد استخلاص دهونها.

٧- الدم الناتج من ذبح الحيوانات: والذى يعامل لإنتاج مجروش الدم، مركب بلازما الدم، الجلوبين المعزول.

٨- النباتات الخضراء: التى تزرع لتغذية الحيوانات مثل الفصفاص الذى يعامل لإنتاج بروتين الأوراق عن طريق التجمع بالحرارة لبروتينات سائل الخلايا.

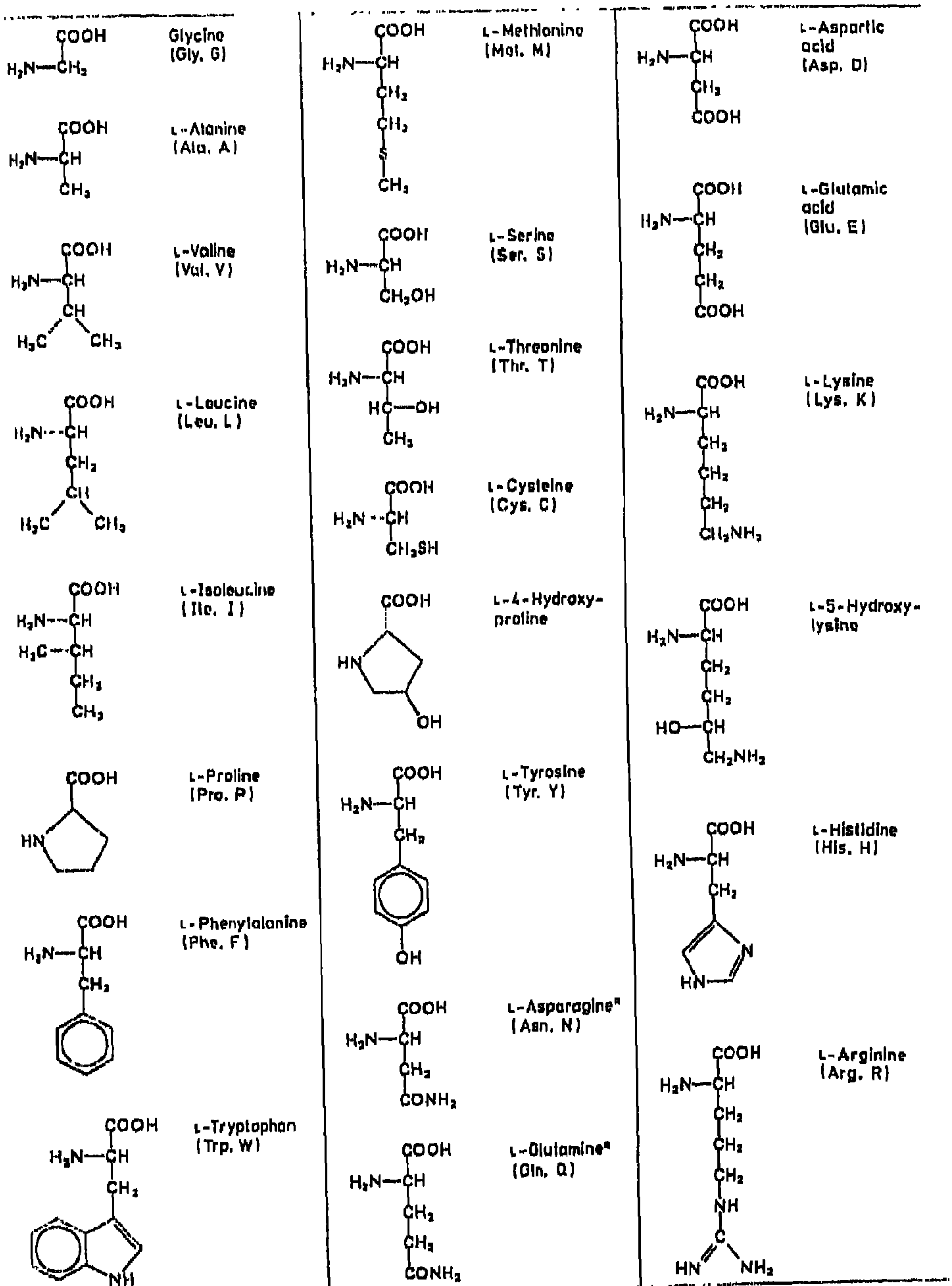
أولا: الأحماض الأمينية Amino acids

بوجد حوالى ٢٠ حامضا أمينيا فى البروتين المتحلل. وفيما يلى التركيب العام للأحماض الأمينية.

$$\begin{array}{c} R - CH - COOH \\ \quad\;\; | \\ \quad\;\; NH_2 \end{array}$$

وفى حالات قليلة فإن R = H (كما فى الجليسين، حامض الخليك الأمينى). وفى بعض الأحماض الأمينية فإن R تكون عبارة عن متبقيات اليفاتية أو أروماتية، وفى بعض الحالات قد تشتمل على مجاميع وظيفية أخرى. ويوضح الشكل رقم (١١)، أهم المجاميع البنائية للبروتين. ويوجد حوالى ٢٠٠ حامض أمينى فى الطبيعة ومعظم الأحماض الأمينية الغير شائعة تكون موجودة فى النباتات على صورة حرة.

شكل (11): التركيب البنائي للاحماض الامينية



* When no distinction exists between the acid and its amide then the symbols (Asx, B) and (Glx, Z) are valid.

١ تقسيم الأحماض الأمينية

هناك طرق عديدة لتقسيم الأحماض الأمينية وبما أن السلاسل الجانبية تعتبر من العوامل المحددة للتفاعلات التى تتحد خلال أو بين الجزيئات فى البروتينات ومن ثم تؤثر على خواص البروتينات فإن الأحماض الأمينية يمكن تقسيمها كالآتى:

١- احماض أمينية ذات سلاسل جانبية غير قطبية ولا تحمل شحنات: مثل الجليسين، الآلانين الفالين الليوسين الايزوليوسين، البرولين، فينيل الآنين تيروزين مثيونين

٢- أحماض أمينية ذات سلاسل جانبية قطبية لا تحمل شحنات: مثل السرين الثيريونين السستين التيروزين الأسباراجين والجلوتامين

٣- أحماض أمينية ذات سلاسل جانبية تحمل شحنات: مثل الأسباراتيك الجلوتاميك الهستدين الليسين الأرجينين

كما يمكن تقسيم الأحماض الأمينية على أساس دورها الفسيولوجى والتغذوى كما يلى:

أ احماض أمينية أساسية Essential amino acids: وتشمل الفالين الليوسين الأيزولوسين الفنيل آلامين التيوزين المثيونين الثريونين الهستدين (أساس للأطفال)، الليوسين والأرجينين (شبه أساسية).

ب- أحماض أمينية غير أساسية Nonessential amino acids: وتشمل الجليسين الآلانين البرولين السرين السستين التيروزين الأسباراجين الجلوتامين وحمض الأسباراتيك وحمض الجلوتاميك.

تشـــير المـــراجع الحديـــثة والمعلـــومات المـــتاحة فى الشبكة الدولية للمعلومات Internet أن هناك أكثر من اتجاه لتقسيم الأحماض الأمينية منها ما يلى:

- علـــى الرغم من وجود أكثر من ٣٠٠ حامض أمينى فى الطبيعة إلا أن حوالـــى ٢٠ حامضا منهم يكونون الوحدات البنائية Monomer Units التـــى تـــتكون منها السلاسل الببتيدية لجزيئات البروتينات وخاصة تلك المعروفة L- α amino acids .
- يمكـــن أن تـــتواجد الأحماض الأمينية بحيث تكون الشحنة السائدة عليها موجـــبة (+) أو سالبة (–) أو ذات شحنة ( ) وتعرف باسم Zero Net charge.
- يمكـــن أن تقســـم الأحمـــاض الأمينية على أساس مدى قابليتها للارتباط بالمـــاء (Hydrophilicity) أو مـــدى قابليـــتها لعـــدم الارتباط بالماء (Hydrophobicity) وذلك على النحو التالى:

Hydrophobic amino acids	Hydrophilic amino acids	
Alanine	Aerginine	Lysine
Isoleucine	Asparagine	Serine
Leucine	Aspartic acid	Threonine
Methionine	Cysteine	
Phenylalanine	Glutamic acid	
Proline	Glutamine	
Tryptophan	Glycine	
Tyrosine	Histidine	
Valine		

- تقسم الأحماض الأمينية أيضا على أساس الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية والنوع الأول Essential amino acids يتكون من ثمانية أحماض هى:

Valine Isoleucine Leucine Methionine Threonine Phenylalanine + Tyrosine Lysine Treptophane

ومن المعروف أن هذه المجموعة من الأحماض الأمينية الأساسية يضاف إليها كل من حمض Arginine وحمض Histidine بالنسبة للأطفال، كما أن مجموعة الأحماض الأمينية الأساسية السابق الإشارة إليها لا يمكن للجسم تكوينها بل يتحتم الحصول عليها من مصادر الأغذية الحيوانية

وفيما يلى الأحماض الأمينية المحددة Limiting amino acids فى بعض مصادر المواد الغذائية:

Limiting amino acids as indicated by PAA scores in 21 protein sources fed to rats*

Protein source	Limiting amino acid
Whole wheat	Lysine
Oatmeal	Lysine
Rye	Lysine
Corn	Lysine
Rice	Lysine and threonine
Millet	Lysine
Soyflour	Methionine
Chick-pea	Methionine
Lentil	Methionine
Lima bean	Methionine
Navy bean	Methionine
Cottonseed flour 1	Lysine and threonine
Cottonseed flour 2	Lysine
Peanut flour 1	Threonine
Peanut flour 2	Lysine, threonine, and methionine
Sesame	Lysine
Egg powder	Lysine
Milk powder	Lysine and methionine
Fish-potato	Tryptophan
Corn-fish	Tryptophan
Corn-blood	Isoleucine

* Data from McLaughlan et al., (1967).

- هناك اتجاها آخر لتقسيم الأحماض الأمينية طبقا لقيم الطاقة لكل حامض أمينى طبقا للجدول رقم (١٧):

جدول (١٧): قيم الطاقة للأحماض الأمينية

Amino acid	ΔH_c /mole amino acid (kcal)	Moles urea /mole amino acid	Metabolizable energy/mole amino acid (kcal)	Moles ATP/mole amino acid	Metabolizable energy/mole ATP (kcal)	Available energy/mole amino acid (kcal)	Available energy/g amino acid (kcal)
Alanine	386.8	0.5	311.3	16	19.5	297.6	3.34
Arginine	893.5	2.0	591.5	29	20.4	539.3	3.10
Aspartate	382.6	0.5	307.1	16	19.2	297.6	2.24
Cysteine	394.6	0.5	319.1	16	19.9	297.6	2.46
Glutamate	536.4	0.5	460.9	25	18.4	465.0	3.16
Glycine	230.5	0.5	155.0	7	22.1	130.2	1.73
Histidine		1.5		25		427.7	2.76
Isoleucine	855.8	0.5	780.3	41	19.0	762.5	5.81
Leucine	856.0	0.5	780.5	40	19.5	744.1	5.67
Lysine		1.0		35		651.0	4.50
Methionine	664.8	0.5	589.3	20	29.5	372.9	2.49
Phenylalanine	1110.5	0.5	1035.1	39	26.5	724.4	4.39
Proline		0.5		30		558.0	4.85
Serine	347.7	0.5	272.2	13	20.9	241.8	2.50
Threonine	490.7	0.5	415.2	21	19.8	390.6	3.28
Tryptophan	1345.2	1.0	1194.2	40	29.9	744.1	3.64
Tyrosine	1061.7	0.5	986.2	42	23.5	781.2	4.31
Valine	698.3	0.5	622.8	29	21.5	539.4	4.60

المصدر : Alsmeyer, et al., (1974)

- هـنـاك تقسيم آخر للأحماض الأمينية من حيث درجة القطبية على النحو التالى:

** Non polar uncharged side chains وهى

glycine
proline
phenylalanine
Alanine
Valine
Leucine
Isoleucine
Tryptophan
Methionine

** Uncharged polar side chains وهي

Serine
Threonine
V_2 cysteine
Tyrosine

** Charged side chains وهي

Asparatic
Glutamic
Histidine
Lysine
Arginine

- ومـن ناحية أخرى يمكن تقسيم الأحماض الأمينية طبقا للتمثيل الحيوى على النحو الموضح بالجدول رقم (١٨):

جدول (١٨): التمثيل الحيوي للاحماض الامينية

Amino acid	Moles O_2 per mole amino acid	RQ	Moles O_2 per mole O_2	Max.moles glucose/ amino acid	RQ after gluco-neogenesis	ATP/O_2 after gluco-neogenesis	Max. moles palmitate/ amino acid	RQ after palmitate synthesis
Alanine	3.0	0.833	5.33	0.381	0.300	0.00	0.0958	1.21
Arginine	5.5	0.727	5.27	0.500	0.400	3.60	0.0951	0.75
Aspartate	3.0	1.17	5.33	0.500	1.83	0.00	0.1018	2.84
Cysteine	4.5	0.556	3.56	0.381	0.10	0.00	0.0958	0.41
Glutamate	4.5	1.00	5.56	0.500	1.00	3.33	0.1250	1.54
Glycine	1.5	1.00	4.67	0.167	1.00	0.00	0.0419	1.54
Histidine	5.5	0.818	4.18	0.500	0.600	1.20	0.1081	0.919
Isoleucine	7.5	0.733	5.47	0.500	0.556	4.67	0.2342	0.829
Leucine	7.5	0.733	5.33	0.000			0.2395	0.838
Lysine	6.5	0.769	5.38	0.000			0.1622	0.868
Methionine	6.5	0.692	3.08	0.500	0.429	0.00	0.1171	0.690
Phenylalanine	10.0	0.850	3.90	0.400	0.776	3.03	0.2461	1.050
Proline	5.5	0.818	5.45	0.500	0.600	4.00	0.1250	0.952
Serine	2.5	1.00	5.20	0.310	1.00	0.00	0.778	1.77
Threonine	4.0	0.875	5.25	0.500	0.500	1.00	0.1250	1.33
Tryptophan	11.0	0.909	3.64	0.500	0.875	2.38	0.2390	1.12
Tyrosine	9.5	0.895	4.42	0.500	0.546	3.38	0.2678	1.26
Valine	5.5	0.818	5.27	0.500	0.600	3.38	0.1250	0.952

المصدر : Alsmeyer. et al.. (1974)

٢- اكتشاف الأحماض الأمينية وتواجدها

١- الآلانين Alanine

تـم فصـله مـن فيروبين الحرير بواسطة Th. Weyl عام ١٨٨٨. ويـوجد فـى معظم البروتيات وبصفة خاصة فى فبروبين الحرير (٣٥%). ويحـتوى الجيلاتين وبروتين الذرة (الزين) على حوالى ٩% آلانين. بينما يصـل محـتواه فـى البروتينات الأخرى إلى حوالى ٢ ٧% ويعتبر من الأحماض الأمينية الغير أساسية للإنسان.

٢- الأرجنين Arginine

تـم فصـله فـى الـبداية مـن شجيرات الترمس الصغيرة بواسطة E.Schulze and E.Steiger عـام ١٨٨٦. ويوجد فى جميع البروتينات بنسبة تتراوح ما بين ٣ ٦%. ويرتفع محتوى بروتين الفول السودانى من حمـض الأرجينـين حيث يصل إلى ١١%. ومن الوجهة الكيميائية نجد أن حمض الأرحينين له أهمية كبيرة كمركب وسطى فى تخليق اليوريا. ويعتبر مـن الأحمـاض الأمينـية شبه الأساسية حيث يدخل فى العديد من عمليات التخليق الحيوية.

٣- الأسباراجين Asparagine

تم فصله كأول حمض أمينى من نبات الهليون Asparagus بواسطة كـل من Vauguelin and Robiquet عام ١٨٠٦ وقد تم اكتشاف وجوده فـى البروتينات العالم Edestin عام ١٩٣٢. وفى الجليكوبروتينات نجد أن المـركب الكربوهيدراتـى ربمـا يـرتبط بجزىء البروتين بواسطة رابطة جليكوزيدية من خلال مجموعة الأميد لحمض الأسباراجين.

٤- حمض الأسباراستيك Asparatic acid

تـم عزله من البقوليات بواسطة H. Ritthousen عام ١٨٨٦ ويوجد فـى جمـيع البـروتينات الحيوانية الفصفصة (Alfalfa)، والذرة غنية فى محـتواها مـن هـذا الحمض (١٤,٦، ١٢,٣% على التوالى) بينما نسبتة

منخفضـــة فـــى بروتينات القمح (٣,٨%). وهو من الأحماض الأمينية غير الأساسية.

٥- السستين Cystine

تـــم فصله من الـــ blodder calculi بواسطة H. Wolaston عام ١٨١٠ ومن القرون بواسطة Moerner عام ١٨٩٩. ويوجد بنسبة عالية فى البـــروتين القرنـــى (٩%). وترجع الأهمية الكبيرة لحمض السستين إلى أن السلاســل الببتيدية للعديد من البروتينات ترتبط مع بعضها بواسطة آثين من متبقيات السستين (Cysteine residues) عن طريق روابط الداى سلفيد. وتحتوى معظم البروتينات على من ١ ٢% من هذا الحامض.

٦- الجلوتامين Glutamine

تـــم عزله فى البداية من عصير بنجر السكر بواسطة من Schulze and Bosshard عـــام ١٨٨٣. كمـــا تـــم اكتشـــاف وجوده فى البروتينات بواسطة Damodaran عام ١٩٣٢. ويتحول حمض الجلوتامين بسرعة إلى صورة حلقية Pycrolidone carboxylic acid ثابتة عند pH يتراوح ما بين ٢,٢ ٤. وهذه الصورة تتحول بسرعة إلى حمض الجلوتاميك عند قيم الـــ pH الأخرى.

٧- حمض الجلوتاميك Glutamic acid

تـــم عـــزله فـــى البداية من جلوتين القمح بواسطة H.Ritthousen عام ١٨٦٦. ويوجد بوفرة فى معظم البروتينات وخاصة فى بروتينات اللبن (٢١,٧ %)، القمـــح (٣١,٤%)، الـــذرة (١٨,٤%) والصـــويا (١٨,٥%). كما يحتوى المـــولاس على نسبة مرتفعة من هذا الحمض. ويستخدم ملح الصوديوم الأحادى لحمض الجلوتاميك فى كثير من المنتجات الغذائية لزيادة وتحسين نكهتها.

٨- الجليسين Glycine

يوجد بنسبة مرتفعة فى التركيب البنائى للبروتين. ويحتوى الكولاجين علـــى ٢٥ ٣٠% جليســين وقد تم فصله لأول مرة من الجيلاتين بواسطة H.Braconnot عام ١٨٢٠. ومع أن الجليسين من الأحماض الأمينية الغير أساســية إلا أنــه يعتبــر مــادة أولية للكثير من المركبات المتكونة بواسطة عمليات التخليق الحيوى المختلفة.

٩- الهستدين Histidine

تــم فصــله فى البداية بواسطة S.G. Hedin and A.Kossel عام ١٨٩٦ مــن البــروتينات الموجودة فى الأسماك. وتحتوى معظم البروتينات على حوالى ٢ ٣% هستدين. كما يحتوى بروتينات الدم على حوالى ٦% من هذا الحمض. ويعتبر من الأحماض الأمينية الأساسية فى تغذية الأطفال.

١٠- ٥ هيدروكسى ليسين 5- Hydroxylysine

تم فصله بواسطة Slyhe وآخرين عام ١٩٢١، وبواسطة Schryver وآخرين عام ١٩٢٥. ويوجد فى الكولاجين. ويرتبط المركب الكربوهيدراتى للكولاجين مع مجموعة الكربوكسيل للحمض الأمينى.

١١- ٤- هيدروكسى برولين 4- Hydroxyproline

تــم الحصول عليه فى البداية من الجيلاتين بواسطة E.Fischer عام ١٩٠٢. ويــوجد بوفــرة فــى الكولاجين (١٢,٤%) ويستخدم تقدير حمض الهيدروكســى برولين للكشف عن وجود الأنسجة الضامة فى منتجات اللحوم المفرومة.

١٢- أيزوليوسين Isoleucine

تــم عــزله فــى البداية من الفبرين Fibrin بواسطة Ehrhich عام ١٩٠٤ وتعتبــر من الأحماض الأمينية الأساسية. وتحتوى بروتينات اللحوم والحــبوب على ٤ ٥% حمض أيزوليوسين كما تحتوى بروتينات البيض على حوالى ٦ ٧%.

١٣- الليوسين Leucine

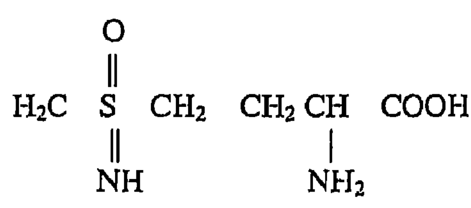
تم فصله من الصوف والأنسجة العضلية بواسطة H.Braconnot عام ١٨٢٠، وهــو من الأحماض الأمينية الأساسية ويوجد فى معظم البروتينات بنســبة تتــراوح مــا بين ٧ ٩%، وتحتوى بروتينات الحبوب على نسب مخــتلفة مــن هذا الحمض (الذرة ١٢,٧%، القمح ٦,٩%) وأثناء التخمر الكحولى يتكون الزيت الكحولى fusel oil من الليوسين والأيزوليوسين.

١٤- الليسين Lysine

تــم فصــله مــن الكازين بواسطة Drechsel عام ١٨٨٩ وهو يمثل حوالــى ٧ ٩% من بروتينات اللحم والبيض واللبن. ويوجد هذا الحمض الأمينــى الأساسى بنسبة منخفضة فى بروتينات الحبوب (٢ ٤%) التى يكــون فــيها البــرولامين هو الحمض السائد. وتعتبر الأسماك والحيوانات البحــرية من أغنى المصادر (١٠ ١١%) وبجانب الثريونين، المثيونين فــإن الليســين يعتبر العامل المحدد للقيمة البيولوجية للعديد من البروتينات. وتؤدى المعاملات التى تجرى على الأغذية إلى حدوث فقد فى الحمض.

١٥- المثيونين Methionine

تم عزله فى البداية من الكازين بواسطة J.H.Mueller عام ١٩٢٢. وتحتوى البروتينات الحيوانية على ٢ ٤% بينما تحتوى البروتينات النباتية على ١ ٢% مثيونين. ويعتبر هذا الحمض من الأحماض الأمينية الأساسية ويلعــب دوراً هاماً فى العديد من العلميات الحيوية كمانح لمجموعة المثيل. وهــو حساس جدا للأكسجين والمعاملات الحرارية ولذلك يحدث فقد فى هذا الحمــض أثناء العديد من المعاملات التى تجرى على الأغذية مثل التجفيف، التحمــيص، Puffing أو المعاملــة بالعوامل المؤكسدة وأثناء تبييض الدقيق بواســطة النيتــروجين ثلاثى الكلور (NCl_3) يتحول المثيونين إلى مثيونين سلفواكسيد سام methionine sulfox imide.



١٦- فنيل الأنين Phenyl alanine

تـم عـزله من الترمس بواسطة E.Schulze عام ١٨٨١ ويوجد فى جمـيع البروتينات (بمتوسط ٤ ٥%) وهو أساس للإنسان. ويتحول هذا الحمـض داخـل الكائن الحى إلى تيروزين ولذلك فإن حمض الفنيل الانين يمكن أن يحل محل التيروزين تغذويا.

١٧- البرولين Proline

تـم اكتشـافه فى الكازين والبيومين البيض بواسطة E.Fischer عام ١٩٠١ ويوجد فى البروتينات بنسب تتراوح ما بين ٤ ٧%. ويوجد بكثرة فـى بروتينات القمح (١٠,٣%)، الجيلاتين (١٢,٨%) والكازين (١٢,٣%) وهو من الأحماض الأمينية الغير أساسية.

١٨- السيرين Serine

تـم فصـله فى البداية من السيرسين Sericin بواسطة E. Cramer عـام ١٨٦٥. وتحتوى معظم البروتينات على حوالى ٤ ٨% سيرين وفى الفوسـفوبروتينات بعمـل حمض السيرين كحامل لحمض الفوسفوريك على صـورة O.phosphoserin، ويـرتبط جـزىء الكـربوهيدرات فـى الجليكوبـروتينات بمجموعة الهيدروكسيل فى حمض السيرين أو الثريونين عن طريق الروابط الجليكوزيدية.

١٩- الثريونين Threonine

تـم اكتشـافه بواسطة W.C. Rose عام ١٩٣٥ وهو من الأحماض الأمينـية الأساسـية الموجودة بنسبة تتراوح ما بين ٤,٥ ٥% فى اللحوم واللبن والبيض، ٢,٧ ٤,٧ فى الحبوب. ويعتبر الثريونين الحمض الأمينى المحدد للبروتينات المنخفضة القيمة البيولوجية. وترجع نكهة حساء البروتين المحلل جزئيا إلى اللاكتوين المشق ومن الثريونين.

٢٠- التربتوفان Tryptophane

تم فصله في البداية من الكازين المتحلل بتأثير إنزيمات البنكرياس بواسطة F.G.Hopkins عام ١٩٠٢. ويوجد بنسبة منخفضة فى البروتينات الحيوانية (١ ٢%) كما أن نسبته منخفضة أيضا فى البروتينات النباتية (١ %)، نسبته مرتفعة فى الليسوانزيمات (٨,٧%). ويحدث له تحطيم كامل أثناء التحليل الحامضى للبروتين ومن الوجهة البيولوجية يعتبر التربتوفان من الأحماض الأمينية الأساسية المهمة حيث يدخل فى التخليق الحيوى لحمض النيكوتنيك nicotinic acid.

٢١- التيروزين Tyrosine

تم الحصول عليه فى البداية من الكازين بواسطة J.Liebig عام ١٨٦٤. وهو مثل الفنيل آلانين موجود فى معظم البروتينات بنسبة ٢-٦% ويحتوى فبروبين الحرير على نسبة عالية من التيروزين تصل إلى ١٠%. ويتحول من خلال الداى هيدروكسى فنيل آلانين بواسطة الأكسدة الإنزيمية الى الميلانين ذي اللون البنى الغامق.

٢٢- الفالين Valine

تم فصل فى البداية بواسطة P.Schutzenberger عام ١٨٧٩. وهو من الأحماض الأمينية الأساسية ويوجد فى بروتينات اللحوم والحبوب (٥ ٧%) وبروتينات اللبن والبيض (٧ ٨%). ويحتوى الآلاستين (elastin) على تركيز مرتفع منه (١٥,٦%).

خواص الأحماض الأمينية

أ التفكك Dissociation

يعتمد وجود الأحماض الأمينية فى المحاليل المائية على رقم الـ pH سواء على صورة كاتيونات أو أيونات ثنائية القطب Zwitter ious أو أنيونات:

$$R\text{-}\underset{\underset{NH_3^{(+)}}{|}}{CH}\text{-}COOH \underset{+H^{(-)}}{\overset{-H^{(-)}}{\rightleftharpoons}} R\text{-}\underset{\underset{NH_3^{(+)}}{|}}{CH}\text{-}COO^{(-)} \underset{+(H)^{(-)}}{\overset{-H^{(-)}}{\rightleftharpoons}} R\text{-}\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}\text{-}COO^{-}$$

وعندما نرمز للكاتيون بالعلامة A^+، الأيون ثنائى القطب بالعلامة $^+A^-$ والآنـــيون بالعلامـــة A^- فـــإن ثابت التفكك أو الانقسام يمكن أن يعبر عنه كالآتى:

$$\frac{[^{(+)}A^{(-)}][H^{(-)}]}{[^{(-)}A]} = K_1 \qquad \frac{[A^{(+)}][H^{(-)}]}{[^{(-)}A^{(-)}]} = K_2$$

وعند رقم ال pH الذى يكون عنده الأيون ثنائى القطبية هو السائد أى عند نقطة التعادل الكهربى PI فإن: $[\,^+A\,] = [\,A^-\,]$

$$[^{(-)}A\,] = \frac{[\,^{(+)}A^{(-)}\,][\,H^{(+)})\,]}{K_1} = \quad [\,A^{(-)}\,] \quad = \frac{[\,^{(+)}A^{(-)}\,]\,K_2}{[\,H^+\,]}$$

$$[\,H^+\,] = (\,K_1 \cdot K_2\,)^{0.5}$$

$$pI = 0.5\,(\,pk_1 + pk_2\,)$$

وثوابت التفكك أو الانقسام للأحماض الأمينية من الممكن تقديرها فعلى سبيل المثال يمكن تقديرها بمعايرة الأحماض Titration.

ويوضـــح الجـــدول رقـــم (١٩) قائمة بثابت التفكك لبعض الأحماض الأمينية ونقطة التعادل الكهربى عند درجة حرارة ٢٥م.

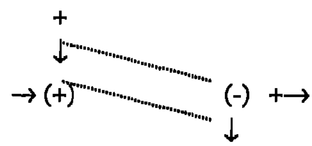
وفـــى الأحماض الأمينية تكون حموضة مجموعة الكربوكسيل مرتفعة وقاعديـــة مجمـــوعة الأميـــنو منخفضة بالمقارنة بالأحماض الهيدروكسيلية والأمينات المقابلة.

جدول رقم (١٩): ثابت التفكك للأحماض الأمينية ونقطة التعادل الكهربي

Amino acid	PK_1	pK_2	pK_3	pK_4	pI
Alanine	2.34	9.69			6.0
Arginine	2.18	9.09	12.60		10.8
Asparagine	2.02	8.80			5.4
Aspartic acid	1.88	3.65	9.60		2.8
Cysteine	1.71	8.35	10.66		5.0
Cystine	1.04	2.10	8.02	8.71	5.1
Glutamine	2.17	9.13			5.7
Glutamic acid	2.19	4.25	9.67		3.2
Glycine	2.34	9.60			6.0
Histidine	1.80	5.99	9.07		7.5
4-Hydroxyproline	1.82	9.65			5.7
Isoleucine	2.36	9.68			6.0
Leucine	2.36	9.60			6.0
Lysine	2.20	8.90	10.28		9.6
Methionine	2.28	9.21			5.7
Phenylalanine	1.83	9.13			5.5
Proline	1.99	10.60			6.3
Serine	2.21	9.15			5.7
Threonine	2.15	9.12			5.6
Tryptophan	2.38	9.39			5.9
Tyrosine	2.20	9.11	10.07		5.7
Valine	2.32	9.62			6.0
Propionic acid	4.87				
2-Propylamine	10.63				
β-Alanine	3.55	10.24			6.9
γ-Aminobutyric acid	4.03	10.56			7.3

وبمقارنـــة قـــيم ثابت التفكك PK لحمض الآلانين (٢- أمينو حمض البـــروبيونيك)، حمض بيتا آلانين (٣- أمينو حمض البروبيونك) نجد أن قيمة الـــ PK تتأثر بالمسافة ما بين المجموعتين الوظيفيتين (NH_2,COO^-) وأسباب ذلك ربما تكون راجعة لما يلى:

فـــى حالة تحول الكاتيون إلى أيون ثنائى القطب فإن ذلك يكون راجعا لتاثير مجموعة الأمونيوم. أما فى حالة تحول الأيون ثنائى القطب إلى أنيون فـــإن ثـــبات الأيـــون ثنائى القطب خلال الآدرتة Hydration يكون راجعا للتنافر بين القطبين.

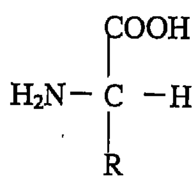


[(+)→ (-), zwitterion; + → water dipole)

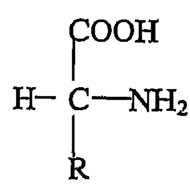
ب- الوضع الفراغى والنشاط الضوئى

Configuration and optical activity

الأحماض الأمينية فيما عدا الجليسين لها مركز نشط chrial centre علـــى الأقل ولذلك فلها نشاط ضوئى. وكل الأحماض الأمينية الموجودة فى البـــروتينات لهـــا نفس الوضع الفراغى C atom α ولذلك فهى تعتبـــر L-amino acids أو (S) amino acids وفى نظام Cohn I- ngold prelog باستثناء حمض السستين الموجود على الصورة (L) فإن الأحماض تكون فى سلاسل على الصورة (R).



L-Amino acid
(S)-Amino acid



D-Amino acid
(R)-Amino acid

والأحمـــاض الأمينـــية فى الصورة (D) أو (R) موجود أيضا فى الطبـــيعة، فمثلا فى العديد من ببتيدات الأعضاء الميكروبية نجد أن أحماض الأيزوليوسين، الثريونين، ٤– هيدروكسى برولين تحتوى على ذرتين كربون غير متماثلتين ولذلك يكون لها أربعة مشابهات.

COOH	COOH	COOH	COOH
H_2N - C - H	H - C - NH_2	N_2H - C - H	H - C - NH_2
H_3C - C - H	H - C - CH_3	H C -CH_3	CH_3 - C - H
C_2H_5	C_2H_5	C_2H_5	C_2H_5
L-Isoleucine (2S:3S) Isoleucine (Common in proteins)	D-Isoleucine (2R:3R) Isoleucine	L-allo Isoleucine (2S:3R) Isoleucine	D-allo-Isoleucine (2R:3S) Isoleucine

ويتأثـــر الـــدوران النوعى للأحماض الأمينية فى المحاليل المائية بقوة رقـــم الـــ pH. حيث يصل إلى الحد الأدنى عند الـــ pH المتعادل ثم يزداد عند إضافة الأحماض أو القواعد (جدول رقم ٢٠).

جدول (٢٠): قيم الدوران النوعي لبعض الأحماض الأمينية

Amino Acid	Solvent system	Temperature (°C)	$[\alpha]_D$
L-Alanine	0.97 M HCl	15	+14.7°
	Water	22	+2.7°
	3 M NaOH	20	+3.0°
L-Cystine	1.02 M HCl	24	-214.4°
L-Glutamic	6.0 M HCl	22.4	+31.2°
	Water	18	+11.5°
	1 M NaOH	18	+10.96°
L-Histidine	6.0 M HCl	22.7	+13.0°
	Water	25.0	-39.01°
	0.5 M NaOH	20	-10.9°
L-Leucine	6.0 M HCl	25.9	+15.1°
	Water	24.7	-10.8°
	3.0 M NaOH	20	+7.6°

وتوجد عدة طرق لفصل الرانسيمات Rancemates التى تتكون عامة أثـناء تخليق الأحماض الأمينية أو عند الكشف عن وجود الـ D-amino acid فى الأغذية والتى تتكون أثناء معاملات الأغذية. ففى الطرق الإنزيمية يسـتخدم التخلـيق الغيـر مـتماثل للأحماض الأمينية الاسيلية الآنيلية من الأحماض الأمينية الأسيلية والآنيلين بواسطة إنزيم الـ Papain.

$$D,L\text{-}R\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CHR^1\text{-}COOH \xrightarrow[\text{Papain}]{\text{Anline}} L\text{-}R\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CHR^1\text{-}CO\text{-}NH\text{-}C_6H_5 + D\text{-}R\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CHR^1\text{-}COOH$$

أو التحلـيل الغيـر مـتماثل لاسترات الأحمـاض الأمينيـة بواسطة انـزيمات estrases، أو الأحمـاض الأمينية الأميدية بواسطة amidases أو N-acylamino acid بواسـطة الـــ amino acylases. كمـا يمكن استخدام طرق الفصل الكروماتوجرافية أيضا لهذا الغرض.

$$D,L\text{-}H_2N - CHR - COOR^1 \xrightarrow{\text{Esterase}} L\text{-}H_2NCHR\text{-}COOH + D\text{-}H_2N\text{-}CHR\text{-}COOR_1$$

$$D,L\text{-}H_2N - CHR - CONHR^1 \xrightarrow{\text{Amidase}} L\text{-}H_2N\text{-}CHR\text{-}COOH + D\text{-}H_2N\text{-}CHR\text{-}CONHR^1$$

$$D,L\text{-}R\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CHR^1\text{-}COOH \xrightarrow{\text{Acytase}} L\text{-}H_2N - CHR^1\ \ COOH + D\text{-}R\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CHR^1\text{-}COOH$$

ج الذوبان Solubility

تخـتلف قدرة الأحماض الأمينية على الذوبان فى الماء بدرجة كبيرة. وبجانب درجة الذوبان العالية لحمض البرولين نجد أن أحماض الهيدروكسى بـرولين، الجليسـين، الآلانين تذوب أيضا فى الماء بسرعة. أما الأحماض الأمينـية الأخـرى فإنهـا أقل ذوبانا وخاصة السستين والتيروزين ويوضح الجـدول رقم (٢١) ذوبان الأحماض الأمينية فى الماء (جرام / ١٠٠ جرام ماء).

جدول رقم (٢١): درجة ذوبان الأحماض الأمينية في الماء مقدرة جرام/١٠٠ جرام ماء

Amino-acid	Temperature (°C) 0	25	50	75	100
L-Alanine	12.23	16.51	21.79	28.51	37.30
L-Asparatic acid	0.21	0.50	1.20	2.88	6.89
L-Cystine	0.01	0.01	0.02	0.05	0.11
L-Glutamic acid	0.34	0.84	2.19	5.53	14.00
Glycine	14.18	24.99	39.10	54.39	67.17
L-Histidine	-	4.29	-	-	-
L-Hydroxyproline	28.86	36.11	45.18	51.67	-
L-Isoleucine	3.79	4.12	4.82	5.08	8.26
L-Leucine	2.27	2.19	2.66	3.82	5.64
D,L-Methionine	1.82	3.38	6.07	10.52	17.60
L-Phenylalanine	1.98	2.97	4.43	6.62	9.90
L-Proline	127.40	162.30	206.7	239.00	-
D,L-Serine	2.20	5.02	10.34	19.21	32.24
L-Tryptophan	0.82	1.14	1.72	2.80	4.99
L-Tyrosine	0.02	0.05	0.12	0.24	0.57
L-Valine	8.34	8.85	9.62	10.24	-

وتـــؤدى إضـــافة الأحماض أو القواعد إلى تحسين الذوبان عن طريق تكوين الأملاح. وبصفة عامة يؤدى وجود الأحماض الأمينية الأخرى أيضا إلـــى زيادة فى درجة الذوبان، ولذلك فإن درجة ذوبان الأحماض الأمينية فى البروتين المتحلل تختلف عنها فى المركب الأصلى.

ذوبان الأحماض الأمينية فى المحاليل العضوية غير جيد ويرجع ذلك إلى الخواص القطبية لهذه الأحماض. وجميع الأحماض الأمينية لا تذوب فى الأثيـــر. أما فى حالة الأيثانول فقد وجد أن حمضي الستسين والبرولين هما فقط اللذان يذوبان فى الميثانول بدرجة نسبية (١,٥ جرام / ١٠٠ جرام على ١٩م) أمـــا الأحمـــاض الأخـــرى مـــثل المثيونـــين، الأرجنين، الليوسين، الجلوتامـــيك، الفنيل آلانين، الهيدروكسى برولين، الهستدين، التربتوفان فإنها تذوب فى الميثانول بدرجة ضئيلة. ويذوب الأيزوليوسين بدرجة عالية نسبيا فى الأيثانول الساخن (٠,٠٩ جرام / ١٠٠ جرام على ٧٨ ٨٠م).

د امتصاص الأشعة فوق البنفسجية UV - Absorption

الأحمـــاض الأمينية العطرية مثل الفنيل آلانين، التيروزين، الربتوفان تمـــتص فـــى مدى من الأشعة الفوق بنفسجية يتراوح ما بين ٢٠٠ ٢٣٠ نانوميتر، ٢٥٠ ٢٩٠ نانوميتر.

ويـــتم تقديـــر البروتينات والببتيدات عند طول موجى ٢٨٠ نانوميتر ويحدث امتصاص لكل من الهستدين، السستين والميثيونين عند طول موجى يتراوح ما بين ٢٠٠ ٢١٠ نانوميتر.

ثانيا: الببتيدات Peptides

تتكون الببتيدات نتيجة لارتباط الأحماض الأمينية مع بعضها من خلال رابطة أميدية. وفى المقابل نجد أن الببتيدات تتحلل إلى أحماض أمينية حرة:

$$2\,H_2N\text{-}CH\quad COOH \underset{+H_2O}{\overset{-H_2O}{\rightleftharpoons}} \underset{\qquad\qquad R\qquad\qquad\qquad R}{H_2N\text{-}CH\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CH\text{-}COOH}$$

والمجامـــيع الوظيفية التى لا تستخدم فى تفاعل تخليق البروتينات يتم إعاقـــتها (حمايتها) وبعد عملية التخليق يتم إزالة هذه الإعاقة تحت ظروف تؤدى للمحافظة على ثبات الروابط الببتيدية المتكونة.

$$\underset{R_1}{X\text{-}NH\text{-}CH\text{-}COOH} + \underset{R_2}{H_2N\text{-}CH\text{-}COY} \xrightarrow{-H_2O} \underset{R_1\qquad\qquad R_3}{X\text{-}NH\text{-}CH\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CH\text{-}COY} \xrightarrow{-X_1'\text{-}Y} \underset{R_1\qquad\qquad R_2}{H_2N\text{-}CH\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CH\text{-}}$$
$$COOH$$

ويرمـــز للببتـــيدات بعـــدد متبقيات الأحماض الأمينية amino acid residues مـــثل داى، تـــراى، تترابيتيدات إلخ. أما تسمية الأوليجو ببتيدات فتســـتخدم للببتـــيدات التـــى تحتوى على ١٠ أو أقل من متبقيات الأحماض الأمينية. وتسمى الببتيدات ذات الوزن الجزيئى المرتفع بالبولى ببتيدات.

تـتحول البوليبيتـيد إلـى البروتين غير محدد ولكن بصفة عامة من المفتـرض وجـود مائة من متبقيات الحمض الأمينى على الأقل فى السلسلة حتى يطلق عليها بروتين.

وتترجم الببتيدات على صورة أحماض أمينية مؤستلة كما يلى:

$$\begin{array}{l} H_2N\text{-}CH\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CH\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CH_2\text{-}COOH \\ \quad\quad CH_2 \quad\quad\quad\quad CH_2OH \\ \quad \text{alanyl} \quad - \quad \text{seryl} \quad - \quad \text{glycine} \end{array}$$

وتسـتخدم الثلاثة حروف الأولى للأحماض الأمينية كرموز تبسيطية للإشارة للببيدات ولذلك فإن الببتيد السابق يمكن الإشارة له كما يلى:

A la S er G ly

كمـا يمكن استخدام حرف واحد للإشارة لتعاقب الحمض الأمينى فى السلاسل الببتيدية الطويلة.

ويشـار للأحمـاض الأمينـية الـــ D- amino acids بالرمـز PerfixD وفى المركبات التى تتضمن السلسلة الجانبية لها مجموعة وظيفية فإنه يشار إلى الرابطة بخط عمودى.

وقـد جـرى العـرف علـى أن متبقيات الأحماض الأمينية التى بها مجموعة أمينية حرة تقع دائما فى اليسار.

كمـا يـتم الإشـارة إلى اتجاه ارتباط الببتيدات فى الببتيدات الحلقية بواسطة أسهم أى $- CO \rightarrow NH -$

الخواص الطبيعية للببتدات

أ التفكك Dissociation

يوضـح الجـدول (٢٢) قيم ثابت التفكك PK values ونقطة التعادل الكهربـى لـبعض الببتيدات. وقد لوحظ حموضة مجاميع الكربوكسيل الحرة

وقلـــوية مجامـــيع الأمينو الحرة فى الببتيدات منخفضة بالمقارنة بالأحماض الأمينـــيـــة الحرة المقابلة. كما يؤثر تتابع الأحماض الأمينية أيضا على هذه القيم، فمثلا: G ly ASP / ASP - G ly

جدول (٢٢): ثابت التفكك ونقط التعادل الكهربي في بعض الببتيدات

Peptide	pK_1	pK_2	pK_3	PK_4	PK_5	PI
Gly-Gly	3.12	8.17				5.65
Gly-Gly-Gly	3.26	7.91				5.59
Ala-Ala	3.30	8.14				5.72
Gly-Ala	2.81	4.45	8.60			3.63
Asp-Gly	2.10	4.53	9.07			3.31
Asp-Asp	2.70	3.40	4.70	8.26		3.04
Lys-Ala	3.22	7.62	10.70			9.16
Ala-Lys-Ala	3.15	7.65	10.30			8.98
Lys-Lys	3.01	7.51	10.05	11.01		10.53
Lys-Lys-Lys	3.08	7.34	9.80	10.54	11.32	10.93
Lys-Glu	2.93	4.47	7.75	10.50		6.10
His-His	2.25	5.60	6.80	7.80		7.30

ب- الصفات الحسية sensory properties

بينما تعتمد جودة الطعم للأحماض الأمينية على الوضع الفراغى، فإن الببتيدات فيما عدا الببتيدات الثنائية الأستر الحلوة لحمض الأسباراتيك يكون طعمهـــا متعادلا أو لازعا (مرا). ولا علاقة لذلك بالوضع الفراغى، وكما هو الحال فى الأحماض الأمينية فإن شدة الطعم تتأثر بالصفات المحبة للماء للسلاســل الجانبـــية (جـــدول ٢٣) ولا يؤثر تتابع الأحماض الأمينية فى السلاسل الببتيدية على شدة الطعم.

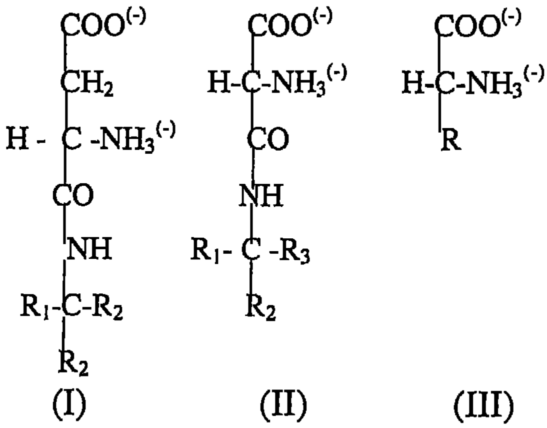
وتتكون الببتيدات ذات الطعم المر اللازع فى الأغذية بفعل التفاعلات المحللـــة للبروتينات، فعلى سبيل المثال يتكون الطعم المر فى الجبن كنتيجة للتســوية الكاملـــة، ولذلك فإن الاستخدام الواسع للإنزيمات المحللة للبروتين لإجراء تعديل كبير فى بروتينات الغذاء بدون إنتاج الطعم المر يسبب بعض المشاكل.

جدول (٢٣): درجات الطعم وجودة بعض الببتيدات

Peptide	Taste	
	Quality	Intensity
Gly-Leuc	Bi	19-23
Gly-D-Leu	Bi	20-23
Gly-Phe	Bi	15-17
Gly-D-Phe	Bi	15-17
Leu-Leu	Bi	4-5
Leu-D-Leu	Bi	5-6
D-Leu-D-Leu	Bi	5-6
Ala-Leu	Bi	18-22
Leu-Ala	Bi	18-21
Gly-Leu	Bi	19-23
Leu-Gly	Bi	18-21
Ala-Val	Bi	60-80
Val-Ala	Bi	65-75
Phe-Gly	Bi	16-18
Gly-Phe	Bi	15-17
Phe-Gly-Phe-Gly	Bi	1.0-1.5
Phe-Gly-Gly-Phe	Bi	1.0-1.5

وقد تم اكتشاف الطعم الحلو لاسترات الببتيدات الثنائية لحمض الأسبارتيك (I) بواسطة Chance عام ١٩٦٩ للـ α L aspartyl L- phenylalanine methyl ester واستر الببتيد المتعادل لـ L- amino malonic acid (II). طعمه حلو أيضا.

وعند مقارنة تركيب كل من I , II , III وجد أن هناك علاقة ما بين الببتيدات الثنائية والحلو والأحماض الأمينية فى الصورة (D) ذات الطعم الحلو. والوضع الفراغى المرغوب لمجاميع الكربوكسيل والأمينو لسلسلة الجانبية المستبدلة (R) يوجد فقط فى الببتيدات من النوع I , II. وقد ظهر أن وجود حمض الـ L- asparatic acid يكون أساسيا ويكون اتصال الببتيد من خلال مجموعة الآلفا كربوكسيل.



الـ R_1 ربما تكون مجموعة هيدروجين أو مجموعة CH_3 (ميثيل) بينما مجاميع الـ R_2 , R_3 تكون متغيرة فى مدى معين. وهناك أمثلة عديدة موضحة بالجدول رقم (٢٤).

جدول (٢٤): درجة الطعم لاسترات داى ببتيد لحمض الأسبارتيك وحمض المالونيك الأمينى

R^2	R^3	Taste
$COOCH_3$	H	8
n-C_3H_6	$COOCH_3$	4
n-C_4H_7	$COOCH_3$	45
n-C_4H_7	$COOC_3H_5$	5
n-C_6H_{13}	CH_3	10
n-C_7H_{15}	CH_3	Neutral
$COOCH(CH_3)_2$	n-C_3H_7	17
$COOCH(CH_3)_7$	n-C_4H_9	Neutral
$COOCH_3$	$CH_2C_4H_5$	Bitter
$CH(CH_2)C_2H_5$	$COOCH_3$	Bitter
$CH_2CH(CH_3)_2$	$COOCH_3$	Bitter
$CH_2C_4H_3$	$COOCH_3$	140
COO-2-methyl-cyclohexyl	$COOCH_3$	5-7,000
COO-fenchyl	$COOCH_3$	22-33,000

وتصل شدة الطعم الحلو لأقصاها بزيادة طول وحجم متبقيات الـ R_2. ومــن الواضــح أن الـــ R_2 الاستبدالية يكون لها التأثير الأكبر على شدة مســتوى وقــوة الطعم، والأمثلة التالية تظهر أن R_2 يجب أن تكون طويلة نسبيا، R_3 يجب أن تكون قصيرة.

L-ASP-L-phe-Orn(aspartame) , R_2 $CH_2\ C_6H_5, R_3 = COOMe$

دائمــا طعمــه حلو بينما L-ASP-D-phe-Orn يكون طعمه لازعا. وفــي حالة أستلة مجموعة الأمين الحرة لحمض الإسبارتيــك فإن خواص الطعم تعتمد على المجموعة المدخلة ولذلك فإن:

D-A la L- ASP L- phe -OMe

طعمه حلو بينما: L-A la L- ASP- L- phe Orn يكون طعمه غير حلو.

ويجــب أن نلاحظ أن السوبراسبرتام يكون طعمه حلواً بدرجة كبيرة. وتعــتمد شــدة الطعــم المالح للـ B- Ala Orn على درجة الــ pH كما يتضح من الجدول رقم (٢٥):

جدول (٢٥): تأثير حمض الهيدروكلوريك على الطعم المالح للببتيد Orn-B-Ala

Equivalents HCI	PH	Taste	
		Salty	Sour
0	8.9	0	
0.79	7.0	0	
0.97	6.0	1	
1.00	5.5	2	
1.10	4.7	3	+/-
1.20	4.3	3.5	+
1.30	4.2	3	++

وبعض الببتيدات تظهر الطعم الملحى مثل:

Ornitlyl B alanine hydrochloride كما يظهر من الجدول رقم (٢٦) وربما تستخدم كبديل لكلوريد الصوديوم.

جدول (٢٦): بعض الببتيدات ذات الطعم لملحى

Peptide	Taste	
	Threshold (mmol/l)	Quality
Orn-β-Ala-HCI	1.25	3
Orn-γ-Abu-HCI	1.40	3
Orn-Tau-HCI	3.68	4
Lys-Tau-HCI	5.18	4
NaCI	3.12	3

Orn: ornithine, B Ala:B alanine , γ Abu: γ aminobutyic acid , Tau: taurine.

البببتيدات الخاصة Individual peptide

تنتشـــر الببتيدات بصورة واسعة فى الطبيعة وتؤثر عادة فى الأنشطة البيولوجـــية النوعية (ببتيدات هرمونية ببتيدات تركيبيه ببتيدات تعمل كمضادات حيوية). وفيما يلى سيتم تناول عدد من الببتيدات ذات الأهمية فى التركيب الكيمائى للأغذية:

١- الجلوتاثيون Glutathione

ينتشر الجلوتاثيون (γ- L- glutamyl L- cysteinyl gly cene) بصورة واسعة فى الحيوانات والنباتات والكائنات الحية الدقيقة، ومما يثير الاهـــتمام فـــى تـــركيب هذا الببتيد هو ارتباط حامض الجلوتاميك من خلال مجمـــوعة الجامـــا كربوكســـيل، وهـــذا الببتـــيد يعتبـــر مرافقاً أنزيمياً للـــ glyoxalase.

ويؤثـــر الجلوتاثـــيون فى النقل النشط للأحماض الأمينية ويستخدم فى العديـــد مـــن الـــتفاعلات من النوع redox-type، كما يؤثر فى الخواص الريولوجية لعجينة دقيق القمح من خلال تقاطع الـــ thio disulfide مع جلوتـــين القمح. ويؤدى التركيز المرتفع من الجلوتاثيون المختزل فى الدقيق إلى اختزال روابط الداى سلفيد فى البروتين، ويقابل ذلك انخفاض فى الوزن الجزيئى لبعض البروتينات المكونة لعجينة الجلوتين.

٢- الكارنوزين Carnosene الأنسرين Anserine والبالنين B alenine

هــذه الببتــيدات جديرة بالاهتمام نظرا لاحتوائها على: B- amino acid حيث يرتبط ال B- alanine مع الــ: L-histidine or 1-methyl L-histidine or 3-methyl وهى موجودة فى مستخلص لحم وعضلات الفقاريات.

والمعلــومات المتوفــرة عن كمية هذه الببتيدات الموجودة فى اللحوم تظهر فى الجدول رقم (٢٧):

جدول (٢٧): محتوى أنسجة اللحوم المختلفة من الكارنوزين والأنسرين والبالنين مقدرة كنسبة مئوية

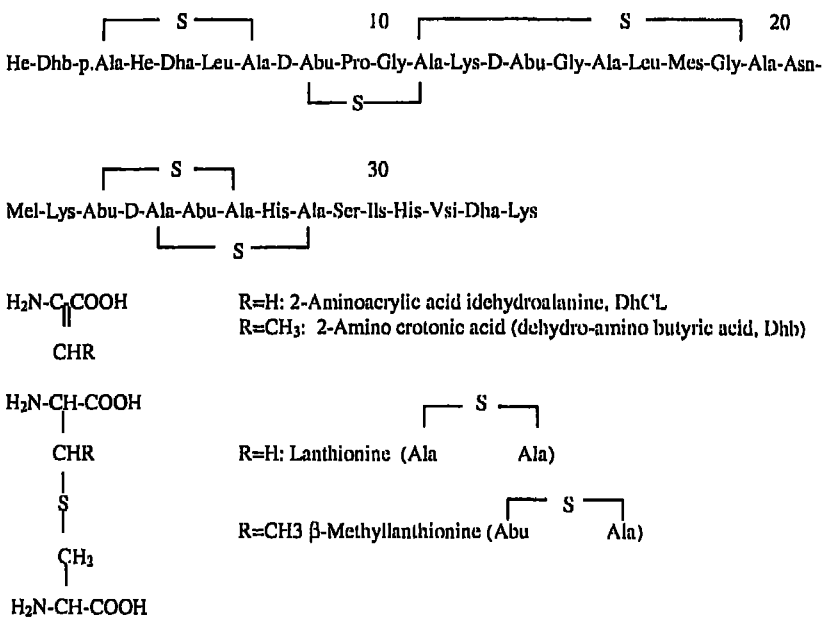
Meat	Carnosine	Anserine	Balenine	Σ
Beef muscle tissue	0.15-0.35	0.01-0.05		0.2-0.4
Beef meat extract	3.1-5.5	0.4-1.0		4.4-6.2
Chicken meat	0.01-0.1	0.05-0.25		
Chicken meat extract	0.7-1.2	2.5-3.5		
Whale meat				ca.0.3
Whale meat extract a	3.1-5.9	0.2-0.6	13.5-23.0	16-30
Whale meat extract b	2.5-4.5	1.2-3.0	0.0-5.2	3.5-12.0

يســود الــــ Carnosine فــى أنســجة عضلات الأبقار بينما الــ anscrene هــو الســائد فى لحوم الدواجن. ويعبر الــ Balenine مركب مميــز لعضلات الحيتان. وتستخدم هذه الببتيدات فى التحليلات التى تجرى لمعرفة تطابق مستخلصات اللحوم والدور الفسيولوجى لها غير واضح. وهذه الببتيدات ربما تساعد على إعادة تنشيط الخلايا المستهلكة أو المنهمكة أى أن الخلايــا تســترد قــدرتها علــى الانبســاط (excitability) وقدرتها على الانقباض. وربما يعمل الــ Carnosine كجهاز إرسال للإشارات العصبية التى تتطلبها عملية الإدراك الحسى.

٣- النيسين Nisin

يتم تكوين هذا الببتيد بواسطة العديد من سلالات الـــ:

(Streptococcus lacts (Langfield N- group ويحتوى على عدد من الأحمـــاض الأمينية غير المعتادة (الشاذة) كما يحتوى على خمسة جسور إيثيـــرية كبريتية مثل: Dehydroalanine، Dehydro B- methyl alanine , Lanthionine , B- methyl L anthioninc.



النيسين له تأثير مضاد تجاه الكائنات الحية الدقيقة الموجبة لجرام مثل: Lactic acid bacteria , Streptococcus , Baclli and Clostudia والكائـــنات الحـــية الأخـــرى اللاهوائية المتجرثمة. ويبدأ النيسين فى العمل ضد الغشاء السيتوبلازمى فى الحال فور إنبات الجراثيم، ولهذا السبب فإن تأثير النيسين ضـــد الجراثيم يكون أكبر منه تجاه الخلايا الخضرية. وقد تم إجازة استخدام النيســين كمـــادة حافظـــة فـــى العديـــد من الدول حيث يستخدم لإعاقة نمو اللاهوائيات فى الجبن ومنتجاتها وخاصة فى الجبن الرأس والجبن المطبوخ لتثبـــيط التخمـــر بواسطة حامض البيوتيريك. ويسمح باستخدام النيسين فى تعليب الخضر باستخدام ظروف تعقيم متوسطة.

٤ - ببتيدات الليسين Lysine peptide

Gly-Lys, Ala-Lys, Glu-Lys, Lys,
Gly ┘

Lys, Lys, Gly-Lys
Glu ┘ Glu Gly ┘

تعتبر ذات صفات جيدة مثل الليسين فى تجارب التغذية على الفئران. وهــذه الببتــيدات تعوق تفاعل التلون البنى مع الجلوكوز. ولهذا السبب فإنه يمكــن إحلالهــا محل الليسين فى الأغذية المدعمة المحتوية على السكريات والتى لا بد من معاملتها حراريا.

ثالثا: البروتينات Proteins

تتكون البروتينات مثل الببتيدات من الأحماض الأمينية والتى ترتبط مع بعضها بروابط أميدية. وهناك بعض العناصر المختلفة التى تتحد مع البروتين من خلال الروابط التساهمية. ومثال على ذلك الفوسفور بروتينات مثل كازين اللــبن. وفسفاتين صفار البيض والذى يحتوى على حمض الفوسفوريك مرتبط بــرابطة أسترية مع متبقيات حمض السرين والثريونين، الجلكوبروتينات مثل K- casien، المــركبات المخــتلفة لبياض وصفار البيض، كولاجين الأنسجة الضامة، بروتين السيرم لبعض أصناف السمك. وتحتوى الجليكوبروتينات على واحــد أو أكثــر مــن السكريات الأحادية أو وحدات الأوليجوسكريدات والتى تــرتبط G- gly cosidically مــع السرين، الثريونين أو الدلتا هيدروكسى لايسين أو ترتبط N- gly cosidically مع الأسبراجين.

ويعتمد تركيب البروتين على تتابع الأحماض الأمينية (البناء الأولى) والتى تحدد الشكل أو التركيب الجزيئى (التركيب الثنائى والثلاثى).

ويــوجد البــروتين فى بعض الأحيان على صورة كتل جزئية والتى تتركب فى شكل هندسى منظم (التركيب الرباعى).

تخــتلف الشــحنة الإجمالــية للبروتين والتى هى عبارة عن المجموع المطلــق لكــل الشحنات الموجبة والسالبة عن تلك التى يطلق عليها الشحنة الصــافية، والتــى تعتمد على رقم الــ pH وهى تكون إما سالبة أو موجبة أو صــفر. وعــندما تكــون الشحنة الصافية صفر والشحنة المطلقة أقصى مــا يمكــن عند نقطة التعادل الكهربى فإن ارتفاع أو انخفاض رقم الــ pH يــؤدى لزيادة الشحنة الصافية للحد الأقصى بينما تكون الشحنة الإجمالية أقل ما يمكن عند نقطة التعادل الكهربى.

وحــيث إن البروتينات لا تتفاعل مع البروتونات فقط ولكن مع بعض الأيــونات الأخــرى فإنه يوجد اختلاف واضح ما بين نقطة التعادل الأيونى isoionic point ونقطــة الــتعادل الكهربى isoelectric point وتعرف نقطــة التعادل الأيونى برقم الــ pH لمحلول البروتين المخفف إلى أبعد حد والــذى لا يحتوى على أيونات أخرى فيما عدا أيونات الأيدروجين الموجبة وأيونات الهيدروكسيل السالبة.

ويمكــن إكساب المحلول البروتينى ذلك باستخدام الديلزة الزائدة تجاه الماء. ويلاحظ أن نقطة التعادل الأيونى ثابتة لمواد محددة بينما نقطة التعادل الكهربــى مخــتلفة، ويعتمد ذلك على وجود الأيونات وتركيزها وعند وجود الأمــلاح بمعنى أنه عندما يكون الارتباط مع الأنيونات أقوى من الكاتيونات فــإن نقطــة الــتعادل الكهربى تكون أقل من نقطة التعادل الأيونى والعكس صحيح عندما يكون الارتباط بالكاتيونات هو الغالب.

ويمكن تقسيم البروتينات أو تصنيفها على أساس التركيب، والوظائف البيولوجــية، وخــواص الذوبان، وكمثال على ذلك فإن البروتينات البسيطة تــتحلــل مائيا وتعطى أحماضاً أمينية فقط بينما البروتينات المرتبطة تحتوى علــى مكــونات بخــلاف الأحمــاض الأمينية. والتركيب البنائى المميــز للبروتينات يتغير بالعوامل المسببة للدنترة مثل الحرارة الحامض القلوى اليوريا بتركيز ٨ مولر.

الخواص الطبيعية للبروتينات

١- التفكك Dissociation

البروتينات لها صفات آمفوتيرية مثل الأحماض الأمينية. واعتمادا على رقـم الـ pH فإن البروتينات وجدت على صورة آنيونات، كايتونات ثنائية التكافؤ أو أيونات ثنائية القطب Zwitter ions.

وتختلف البروتينات فى مجاميع الكربوكسيل والألفا أمينو، وبما أن هذه المجامـيع تـرتبط مع بعضها بواسطة الروابط الببتيدية فإن اكتساب أو فقد البـروتونات للمجامـيع الطرفية الحرة يكون محدوداً نتيجة لذلك فإن معظم المجاميع الفعالة فى التفكك تنشأ عن السلاسل الجانبية.

ويوضـح الجـدول رقـم (٢٨) قائمـة بثابت التفكك لبعض مجاميع البروتين.

جدول (٢٨): قيم الـ pK لسلاسل البروتين الجانبية

Group	pK (25°C)	Group	PK (25°C)
α-Carboxyl-	3-4	Imidazolium-	4-8
β,γ-Carboxyl-	3-5	Hydroxy-	
α-Ammonium-	7-8	(aromatic	9-12
ε-Ammonium-	9-11	Thiol	8-11
Guanidinium-	12-13		

وعـند نقطة التعادل الكهربى يكون البروتين غير ذائب ويتجه معظمه للترسيب (التعادل الكهربى الترسيبى) ويصل للحد الأقصى للتبلور، كمـا أن لزوجة البروتينات الذائبة وقوة الانتفاخ للبروتينات الذائبة تصل إلى الحد الأدنى عند نقطة التعادل الكهربى.

وعـندما يكون تركيب الأحماض الأمينية للبروتين معروفا فإن نقطة التعادل الكهربى يمكن استنتاجها بإتباع الصيغة التالية:

$$PI = 10 \log Q_{PI} + 7.0$$

حـيث Q_{PI} عبارة عن مجموع الانحرافات فى نقاط التعادل الكهربى لجميع الأحماض الأمينية المشاركة عن النقطة الطبيعية:

$$Q_{PI} = \frac{4.2.\ nAsp + 3.8\ m3\ Glu}{3.8\ qArg + 2.6r\ Lys + 0.5\ sHis}$$

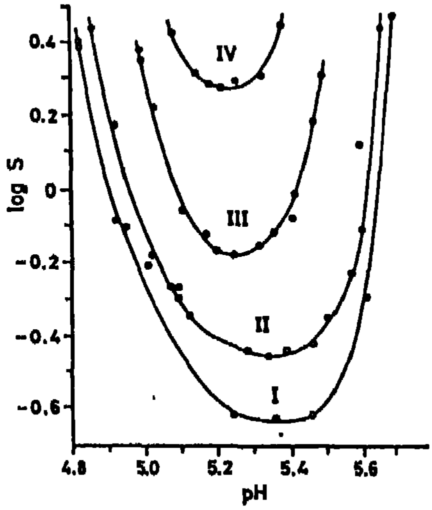
وهذه الصيغة تضعف فى حالة ما تكون المجاميع الحامضية والقاعدية موجودة على صورة مخفية masked form.

٢- النشاط الضوئى Optical activity

لا يـرجع النشـاط الضوئى للبروتينات إلى عدم التماثل الموجود فى الأحمـاض الأمينـية فقط ولكن يعزى أيضا إلى الـ Chirality الناتج من تـرتيب سلاسـل الببتيدات. والمعلومات المتعلقة بتركيب البروتينات يمكن الحصـول علـيها عـن طريق تسجيل الدوران الضوئى الشتتى Optical rotary dispersin (ORD) أو مـن التلوانـية الدائرية circular (CD) dichrosim خاصة فى المدى الذى يحدث عنده امتصاص للروابط الببتيدية عند طول موجى ١٩٠ ٢٠٠ نانوميتر.

٣- الـذوبان Solubility الادرتـه Hydration قـوة الانتفاخ Swelling power

تخـتلف درجـة ذوبان البروتينات. وهى تتأثر بعدد المجاميع القطبية والغيـر قطبية وترتيبها داخل الجزىء. وبصفة عامة تذوب البروتينات فى المذيـبات القطبية القوية فقط مثل: الماء، الجليسرول، farmamide، الداى ميثيل فورم اميد أو حمض الفورميك. ومن الجدير بالملاحظة أن البروتينات فـى المحاليل المنخفضة القطبية نادرا ما تكون ذائبة (مثل البرولامينات). ويعتمد الذوبان فى الماء على رقم الـ pH وتركيز الأملاح ويوضح الشكل رقم (١٢) هذه العلاقة فى حالة البيتا لاكتوجلوبيولين.



شكل (١٢): تاثير رقم الحموضة والقوة الايونية علي درجة ذوبان البيتالاكتوجلوبين .

وعــندما تكون القوى الأيونية منخفضة فإن الذوبان يزداد بزيادة القوة الأيونية ويكون الذوبان أقل ما يمكن (نقطة التعادل الكهربى) عند تغير رقم الـــ pH من ٥,٤ إلى ٥,٢ وهذا التغير يرجع إلى أفضلية ارتباط الأنيونات بالبروتين. وعندما يحتوى البروتين على مجاميع مكشوفة كارهة للماء كافية عــند نقطــة التعادل الكهربى فإن تجمعه يكون راجعا إلى النقص فى التنافر الألكتروســتاتيكى بواســطة روابط الجزيئات الكارهة للماء ويحدث ترسيب للبــروتين، وفى المقابل عندما يكون التفاعل ما بين الجزيئات الكارهة للماء فقــط ضعيفا فإن البروتين يظل ذائباً حتى عند نقطة التعادل الكهربى، وهذا يــرجع إلـــى الأدرته Stevic repulsion , hydration وفى الحقيقة فإن للأملاح الطبيعية تأثيرين على ذوبان البروتين: ففى التركيزات المنخفضة تـــزداد درجة ذوبان البروتينات (Salting in effect) نتيجة لإعاقة قوى الارتـــباط بـــين الجـــزيئات. ويكون لوغاريتم الذوبان (S) متناسبا مع القوة الأيونية (U) عند التركيزات المنخفضة.

$$\log S = K.u.$$

وتقـل درجـة ذوبـان البـروتينات (Salting out" effect) عند التركيـزات المرتفعة من الأملاح، وهذا يرجع إلى ميل أيونات الأملاح الى الادرته وفى هذه الحالة تطبق المعادلة التالية:

$$\log S = \log S_0 \quad K.u.$$

:where

S_0 = Solubility at u = 0

K = Salting out Constant .

ويمكـن ترتيب الانيونات والكاتيونات فى وجود نفس الايون المضاد كالاتى اعتمادا على الـ Salting out effect.

$K^+ > Rb^+ > Na^+ > Cs^+ > Li^+ > NH_4^+$ $SO_4^{2-} > citrate^{3-} > tartrate^{2-} > acetate^- > Cl^- > NO_3^- > Br^- > I^- > CNS^-$

والأنـيونات المتعددة التكافؤ تكون أكثر تاثيرا عن الأنيونات الأحادية الـتكافؤ، بيـنما الكاتـيونات الثنائية التكافؤ تكون أقل تأثيرا من الكاتيونات الأحادية التكافؤ.

وحـيث إن البـروتينات عـبارة عن مواد قطبية فإنها تتادر فى الماء ودرجـة الامتصـاص للماء أى الادرته (جرام الماء اللازم لادرته / جرام بـروتين) مختلفة حيث تكون ٠,٢٢ فى حالة Ovalbumin (فى كبريتات الأمونـيوم)، ٠,٠٦ للـ edestin (فى كبريتات الأمونيوم)، ٠,٨ للبيتا جلاكتوجلوبيولـين، ٠,٣ للهيموجلوبين. وتقريبا فإن ٣٠٠ من جزيئات الماء تكون كافية لتغطية سطح الـ Lysozyme (حوالى $6000 A^2$).

انتفاخ البروتينات الغير ذائبة يكون متوازيا مع ادرته البروتينات الذائبة والتـى تـؤدى إلى إدخال الماء بين سلاسل الببتيدات فتحدث زيادة فى الحجم فتحدث تغيرات أخرى فى الخواص الطبيعية للبروتين. فعلى سبيل المثال يزداد إبعـاد الميوفيبريل بمقدار ٢,٥ مرة عن القيمة الأصلية أثناء الشطف بمحلول كلـوريد الصـوديوم (مـول / لتر) والتى يقابلها زيادة فى الحجم تبلغ ستة أضـعاف. وكمـية المـاء الممتصة بواسطة عملية الانتفاخ يمكن أن تساوى

التضاعف الحادث فى الوزن الجاف للبروتين. فمثلا تحتوى الأنسجة العضلية على ٣,٥ ٣,٦ جرام ماء لكل جرام من المادة البروتينية الجافة.

ويمكن تقدير قوة البروتين على الاحتفاظ بالماء باتباع المعادلة التالية:

$$a = f_c + 0.4\ f_p + 0.2\ f_n$$

fraction of charged , polar , neutral amino acid residues :a: g water/g protein , fc , fp , fn

٤ – تكوين وثبات الرغوة Foam and foam stability

تعمـــل البـــروتينات كمـــركبات لتكوين الرغوة وثباتها فى العديد من الأغذيـــة كمـــا فـــى حالة العجائن المخبوزة، الحلوى، البيرة. وهذه الصفات تخـــتلف مـــن بروتين لآخر. حيث يكون البيومين السيرم رغوة ممتازة بينما البيومـــين البيض عكس ذلك. ومخلوط البروتينات مثل بياض البيض يكون ملائمـــا لهـــذا الغرض بدرجة كبيرة حيث يسهل الجلوبيولين تكوين الرغوة، Ovomucin يثبت الرغوة أما البيومين البيض، Conolbumin فإنه يجيز هذا الثبات من خلال التخثر الحرارى.

والـــرغوة عبارة عن انتشار للغازات فى السوائل. وتثبت البروتينات الـــرغوة عـــن طـــريق تكوين فيلم مرن متماسك حول فقاعات الغاز. وأثناء الانـــدماج يدمص البروتين على سطح الانفصال من خلال المناطق الكارهة للمـــاء، ويلـــى ذلـــك انتشار جزىء (دنترة سطحية) ويسهل خفض التوتر السطحى الناتج من ادمصاص تكوين سطوح انفصال جديدة وفقاعات غازية إضـــافية. ويســـاعد الانتشـــار الجزىء للبروتين على تكون فيلم ثابت حول الفقاعات الغازية.

ويتميـــز البـــروتين المثالى لتكوين وثبات الرغوة بعدة مميزات مثل: الوزن الجزيئى المنخفض، السطح الكارهة للماء بشدة، درجة الذوبان العالية، سهولة الدنترة، أن يحمل شحنات صافية صغيرة عند بلوغه pH الغذاء.

ويمكن تحسين الخواص المميزة للبروتين فى تكوين وثبات الرغوة عن طريق إجراء بعض التحويرات الطبيعية والكيميائية. فمثلا التحليل الإنزيمى للجزىء يؤدى إلى تكوين جزيئات أصغر سريعة الانتشار مع تحسين درجة

ذوبانهـا وحـدوث فقد للمجاميع الكارهة للماء. والضرر الذى ينتج عن ذلك يتمثل فى انخفاض ثبات الغشاء وفقد القدرة على التخثر .

كما يمكن أيضا تحسين هذه الصفات المميزة عن طريق إدخال شحنات أو مجمـوعات طبيعـية أو إجـراء دنترة حرارية جزئية. وحديثا تم اختبار إضـافة البـروتينات مثل Clupeines والتى تؤدى إلى زيادة واضحة فى اتحاد البروتين مع الغشاء وتسمح بتكوين الرغوة فى الأنظمة الدهنية.

٥- تكوين الجل Gel formation

الجيليات عبارة عن أنظمة منتشرة تتكون من مركبين على الأقل والتى يكـون فيها الوسط المنتشر فى الـ dispersant شبكة متماسكة وهى تتغير بفقـدان السيولة والمرونة والمقدرة على التشوه. وتقع الجيليات بين المحاليل التـى يوجد بها قوى تنافر بين الجزيئات ووسط الانتشار هو السائد، وتكون مترسبة حيث يكون التفاعل القوى بين الجزيئات هو الغالب ويجب أن نفرق مـا بـين نوعى الجل. الشبكة البوليميرية Polymeric network، التجمع الانتشارى aggregated dispersions. ومن أمثلة الشبكة البوليميرية الجل المتكون بواسطة الجيلاتين والسكريات العديدة مثل الأجار ، الكارجينان، ويتم تكوين الشبكة ثلاثية الابعاد بواسطة تجمع الجزيئات الدقيقة غير المرتبة من خـلال التـرتيب التركيبـى الجزيئى حيث يتكون حلزون ثنائى. والصفات المميـزة لهـذا النوع من الجل تتمثل فى انخفاض تركيز البوليمير والشفافية والتركيب الناعم. ويحدث تكوين للجل عند pH معين بواسطة إضافة أيونات محددة أو عن طريق التسخين والتبريد.

ونظـرا لأن الـتجمع يحـدث غالـبا بواسطة الروابط الهيدروجينية الموجـودة بـين الجـزيئات والتى تتحطم بسهولة عندما تسخن فان الشبكة البوليميـرية يعتبـر thermo resversible أى أن الجل يتكون بتبريد المحلول وينصهر مرة أخرى عندما يسخن.

ومـن أمـثلة الـتجمع الانتشارى aggregated dispersion الجل المكون بواسطة البروتينات الكروية بعد تسخينها ودنترتها. ويؤدى التسخين الانتشـارى thermal unfolding للبـروتين إلـى فقد سلاسل الأحماض

الأمينية الجانبية والتى ربما تدخل فى تفاعل ما بين الجزيئات. ويلى ذلك حدوث التجمع فى حين تتكون تجمعات كروية صغيرة والتى تتحد مكونة خيوطاً مجدولة وهذا التفاعل يؤسس الشبكة الجيلية. وقبل أن يتكون جل بواسطة التجمع الغير مرتب فإنه من الضرورى توافر تركيز عال من البروتين (٥ – ١٠%). ويجب أن يكون معدل التجمع أقل من معدل الانتشار وإلا يتكون جل ردىء خشن التركيب كما يحدث فى المنطقة القريبة من نقطة التعادل الكهربى، وتعتمد درجة الدنترة اللازمة لبداية التجمع على البروتين وحيث إن الدنترة الجزئية تؤدى إلى فقد المجموعات الكارهة للماء الأولية فأن الروابط الهيدروجينية بين الجزيئات تكون هى السائدة والتى تنتج خواص ثرموبلاستيكية thermo isreversable لهذا النوع من الجل الذى يختلف عن الجل من النوع الرجعى حراريا thermo revessable gel المثبت بواسطة الروابط الهيدروجينية. ومن خواص الجل الثرموبلاستيكى أنه لا يتحول للقوام السائل بالتسخين ولكن يمكن أن يصبح ناعماً أو منكمشاً.

ويمكن تحسين المقدرة على تكوين الجل عن طريق إضافة الأملاح حيث تؤدى الزيادة المتوسطة فى القوة الأيونية إلى زيادة التفاعل ما بين الجزيئات الصغيرة المشحونة أو الجزيئات المتجمعة بواسطة الشحنات المستترة بدون حدوث ترسيب، ومثال على ذلك التخثر الحرارى لفول الصويا الخام (tofu) الذى يتم تعزيزه بإضافة أيونات الكالسيوم.

٦- التأثير الاستحلابى Emulsifying effect

المستحلبات عبارة عن نظم منتشرة تتكون من واحد وأكثر من السوائل الغير قابلة للامتزاج. وهذه المستحلبات تثبت بواسطة عوامل الاستحلاب والتى تكون فيلماً ما بين السطوح البينية وتمنع الأوجه المنتشرة من التدفق معا. ونتيجة لهذه الخصائص الطبيعية فإن البروتينات يمكن أن تعمل على ثبات المستحلبات مثل اللبن، وتعتمد صلاحية البروتينات كعوامل استحلاب على معدل انتشارها إلى السطوح البينية، قابليتها للادمصاص على هذه السطوح وقابليتها للتشوه فى الشكل تحت تأثير الشد الواقع بين السطحين (الدنترة السطحية). ويعتمد معدل الانتشار على درجة الحرارة، الوزن

الجزيئـــى والـــذى يتأثــر تباعا بالــــ pH والقوة الأيونية. وتعتمد القابلية للأدمصـــاص على المجموعات الهيدروفيلية (المحبة للماء) والهيدروفوبية (الكارهـــة للمـــاء) المعرضة (المكشوفة) وبالتالى على الأحماض الأمينية الجانبية بالإضافة الى الـــ pH، والقوة الأيونية ودرجة الحرارة. ومن ناحية ثـــبات الشـــكل فإنــــه يعتمد على تركيب الأحماض الأمينية، الوزن الجزيئى والروابط الثنائية الكبريت الموجودة بين الجزيئات.

وبـــناء علـــى ذلك فإن البروتين المثالى كعامل استحلاب للأنظمة من الـــنوع زيـــت فـــى ماء oil in water emulsion يجب أن يكون ذا وزن جزيئـــى مـــنخفض نسبيا، متوازن فى تركيب الأحماض الأمينية والشحنات الموجـــودة عليها، درجة ذوبانه فى الماء عالية، يحتوى على مشتقات قطبية وغيـــر قطبـــية، يكون سطوحا كارهة للماء Surface hydrophobicity وثابت فى الشكل نسبيا.

تأثير المعاملات التكنولوجية Effect of technological treatments

تعـــتمد طبـــيعة ومـــدى التفاعلات الكيميائية التى تحدث فى البروتين لمعـــاملات التكنولوجـــية لتصنيع الأغذية على عدد من العوامل مثل تركيب الغذاء وظروف المعاملات مثل درجة الحرارة، الـــ pH وتوافر الأكسجين. ونتـــيجة لهذه التفاعلات فإن القيمة الغذائية للبروتين ربما يحدث لها انخفاض بسبب:

١- هدم الأحماض الأمينية الأساسية.

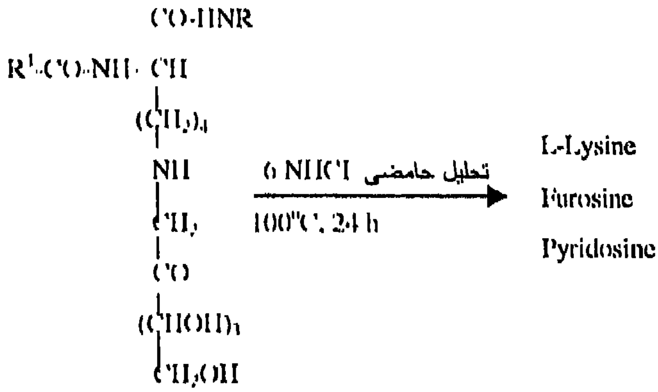
٢- تحول الأحماض الأمينية الأساسية إلى مشتقات غير قابلة للتمثيل.

٣- انخفـــاض قابلية البروتين للهضم نتيجة لتكوين الروابط المتقاطعة بين أو داخل السلاسل.

ومـــن الممكـــن أيضا تكوين ناتجات التحطيم السامة. ويخضع تحديد التغيـــرات الفسيولوجية والتغذوية التى تحدث بسبب معاملات الأغذية لبعض الجـــدل والاراء المعارضـــة. ويســـود تفاعل ميلارد Maillard reaction

لمجمـــوعة الــــ E- amino لحمض الليسين فى وجود السكريات المختزلة مثل اللاكتوز والجلوكوز والتى ترتبط مع البروتين مكونة:

E- N- deox y lactulosyl 1- lysine or E- N deox y fructosyl 1- lysine علـــى التوالي. ولا يستفاد من الليسين بيولوجيا على هذه الصورة. والتحليل الحامضـــى للـــنواتج الأولـــية لهذا التفاعل ينتج الليسين بالإضافة إلى نواتج التحطيم وهى الــــ pyridosine , furosine بنسب ثابتة.



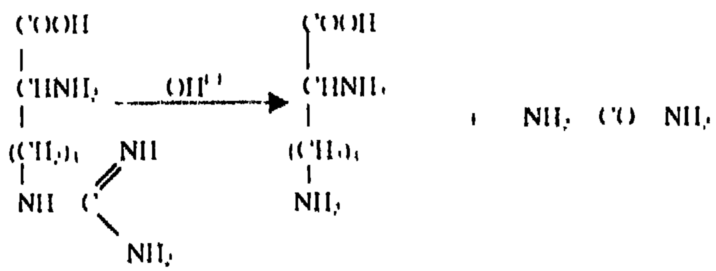
والســـكريات غيـــر المختـــزلة مثل السكروز يمكن أن تحدث فقدا فى الليســـين عـــندما تكون الظروف ملائمة لتحليل السكريات. ويحدث فقد فى الأحمـــاض الأمينـــية الـــناتجة مثل الثريونين، الأرجنين، الليسين، السستين، الســـرين وبعـــض الأحمـــاض الأمينية الأخرى عند قيم الـــ pH المرتفعة. وتحـــتوى نـــواتج تحليل البروتين بالقواعد عادة على بعض المركبات غير المعـــــتادة مـــــثل: ornithine, β-aminoalanine, lysinoalanine , ornithinoalanine, lanthionine, methyllanthionine and D-alloiso leucin.

بالإضـــافة إلـــى بعـــض الأحمـــاض الأمينية الأخرى الموجودة على الصورة (D) ويؤدى التحليل الحامضى للروابط المتقاطعة فى البروتين إلى إنتاج أحماض أمينية شاذة (غير معتادة) موضحة بالجدول رقم (٢٩):

جدول (٢٩): تكوين الأحماض الأمينية بواسطة المعاملة القلوية للبروتينات

Name	Formula
3-N-Lysinoalanine (R=H) 3-N-Lysino-3-methyl-alanine (R=CH_3)	$COOH-CHNH_2-CHR-NH-(CH_2)_4-CHNH_2-COOH$
3-N-Ornithinoalanine (R=H) 3-N-Ornithiono-3-methyl-alanine (R=CH_3)	$COOH-CHNH_2-CHR-NH-(CH_2)_3-CHNH_2-COOH$
Lanthionine (R=H) 3 Methylalanine (R=CH_3)	$COOH-CHNH_2-CHR-S-CH_2-CHNH_2-COOH$
3-Aminoalanine (R=H) 2,3-Diamino butyric acid (R=CH_3)	$COOH-CHNH_2-CHRNH_2$

ويـــتكون حمـــض الأورنثـــين ornithine مـــن خلال انقسام حمض الأرجنين كما يلى:

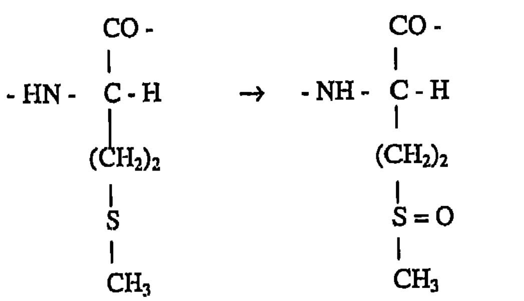


ويـــتم تكـــوين الأحمـــاض الأمينية (D) بواسطة إزالة البروتون عن طريق لـــ C- Carbanion$_2$. والتفاعل مع حمض L.isoleucine له أهمية خاصــــة حيث إن هذا الحمض هو أيسومر لحمض الـــ D-alloisoleucine والـــذى يختلف عن باقى الأحماض الـــ (D) فى أنه diosteroisomer وله وقـــت ظهور retention time يختلف عن الـــ L- isoleucine مما يجعل من الممكن تقديره مباشرة من كروماتوجرام الأحماض الأمينية.

ويـــؤدى تسخين البروتين فى الحالة الجافة عند الـــ pH المتعادل إلى تكـــوين روابـــط أيزوببتيدية isopeptide bonds ما بين الـــ E-amino groups لمشـــتقات حمـــض الليسين ومجاميع البيتا أو الجاما كربوكس آميد لمشتقات حمض الأسباراتيك أو الجلوتامين.

وهـــذه الروابط الأيزوببتيدية تنقسم خلال التحليل الحامضى للبروتين ولـــذلك لا تعتبر مسئولة عن ظهور الأحماض الأمينية الغير معتادة، وتؤدى المعاملـــة الحـــرارية الشـــديدة للبروتين فى وجود الماء إلى زيادة التحطيم الشامل.

وتشـــمل التغيرات الأوكسيدية فى البروتين فى البداية الميثيونين الذى يكون بسرعة نسبية الميثونين سلفوكسيد methionine sulfoxide.



ويظهـــر أن تكـــوين الميثونـــين سلفوكســـيد يكون مرتبطا مع أكسدة الليبـــيدات، الفينول المؤكسد والتعرض للضوء فى وجود الأكسجين والمواد الحساســـة مـــثل الـــريبوفلافين. وبعـــد اختـــزاله فى جسم الكائن الحى إلى

الميثيونـــين فإنـــه يظهر بوضوح أن البروتين المرتبط بالميثيونين سلفوكسيد يمكن الاستفادة منه بيولوجيا.

ويوضـــح الجـــدول رقـــم (٣٠) مدى تكوين الأحماض الأمينية (D) كنتيجة لمعاملة البروتين بالقلويات.

جدول (٣٠): تكوين الأحماض الأمينية من التحليل القلوى للبروتينات

Protein	Heating time (h)	D-Asp (%)	D-Ala	D-Val	D-Leu	D-Pro	D-Glu	D-Phe
Casein	0	2.2	2.3	2.1	2.3	3.2	1.8	2.8
	1	21.8	4.2	2.7	5.0	3.0	10.0	16.0
	3	30.2	13.3	6.1	7.0	5.3	17.4	22.2
	8	32.8	19.4	7.3	13.6	3.9	25.9	30.5
Wheat	0	3.3	2.0	2.1	1.8	3.2	2.1	2.3
Gluten	3	29.0	13.5	3.9	5.6	3.2	25.9	23.3
Promine	0	2.3	2.3	2.6	3.3	3.2	1.8	2.3
D (Soya Protein)	3	30.1	15.8	6.6	8.0	5.8	18.8	24.9
Lactal-	0	3.1	2.2	2.9	2.7	3.1	2.9	2.3
Bumin	3	22.7	9.2	4.8	5.8	3.6	12.2	16.5

* تركيز محلول البروتين ١% فى أيدروكسيد صوديوم ٠,١ عيارى درجة الـ pH = ١٢,٥ ودرجة الحرارة ٦٥° م.

وقـــد اتضـــح أن تكوين الـــ lysinoalanine لا يتأثر فقط بالـــ pH ولكن أيضا بمقدار البروتين .

ويظهر الجدول رقم (٣١) محتوى حمض الـــــ Lysinoalanine فى المنـــتجات الغذائـــية المعاملة صناعيا أو المحضرة تحت الظروف المنزلية المعتادة، ويتأثر المحتوى بوضوح بنوع الغذاء وظروف المعاملة.

وعـــند تعريض الأغذية للإشعاع يتكون أرثو-هيدروكسى فنيل الانين والـــذى يســـمى أورثوتيـــروزين مـــن خلال تفاعل الفنيل ألانين مع شقوق الهيدروكسيل.

ويمكن الكشف عن هذا المركب فى التحليلات باستخدام جهاز HPLC وهـــو تحت fluorescence detection or electro chemical detect الدراسة لاتخاذه كدليل على تعرض الطعام للإشعاع. وتعتمد الكمية المتكونة على جرعة الإشعاع ودرجة الحرارة.

جدول رقم (٣١): - محتوي الأغذية من الـ Lysinoalanine

Food	Origin-Treatment	Lysinoalanine (mg/kg protein)
Frankfurter	Raw	0
	Cooked	50
	Roasted in oven	170
Chicken drums	Raw	0
	Roasted in oven	110
	Roasted in micro wave oven	200
Egg white, fluid		
Egg-white	Boiled	
	(3 min)	140
	(10 min)	270
	(30 min)	170
	Baked	
	(10 min/150°C)	350
	(30 min/150°C	1100
Dried egg white		160-1820
Condensed milk, Sweetened		360-540
Condensed milk, Unsweetened		590-860
Milk product for Infants		150-640
Infant food		<55-150
Soya protein isolate		0-370
Hydrolyzed Vegetable protein		40-500
Cocoa-powder		130-190
Na-caseinate		45-560
Na-caseinate		400-6900
Ca-caseinate		250-4320

التغيرات التى تحدث فى الخواص الطبيعية للبروتينات

لقــد كــان مــن الصعوبة بمكان فهم وتعريف كلمة Denaturation تعــريفا كــاملا وواضحا. فقد درست هذه الظاهرة الطبيعية على البروتينات بواسطة العديد من الباحثين قرابة نصف قرن من الزمان، ولكن رغم ذلك لم يــتمكن أحدهم من معرفة هذه الظاهرة معرفة كاملة. وسبب صعوبة البحث فــى هــذه الظاهرة كانت ترجع إلى العدد الكبير جدا من العوامل المشتركة المتغيــرة Parameters الداخلة فى دراسة البروتينات. وقد ظهر فى العشر سنوات الأخيرة عدد كبير جدا من التعريفات لهذه الظاهرة وسوف نشير إلى بعضها فيما يلى:

Denaturation

- هــو التغيــر فى جزىء البروتين الأصلى والذى يجعل جزىء البروتين غير قابل للذوبان فى المحاليل التى كان يذوب فيما قبل.
- هــو أى تعــديل (غيــر تحللى) فى التركيب الوحيد للبروتين الأصلى والــذى ينشــط التغيــرات المعــروفة فى الخواص الكيماوية والطبيعية والبيولوجــية. وكلمــة Denaturation مــن المحتمل أن تشتمل على تغيــرات فــى الخواص الطبيعية وبدرجة أقل فى الخواص الكيمياوية. ومعظــم التغيــرات فــى الصفات الطبيعية هى عبارة عن تغيرات فى الــروابط الــثانوية مــثل الــرابطة الأيونــية ثنائــية القطب، الرابطة الهيدروجينية ورابطة فان دير فالس وكذلك فى المواضع الدائرة حول الروابط الفردية التى يتحكم فيها تركيب الروابط الزوجية.
- هــو التغيــر فــى جزئيات البروتين الطبيعى حيث واحدة أو أكثر من الخواص تغير مقاسه تحت مرجع قياسى معين من الاشتراطات.

واصــطلاح Denaturation يعبــر عن التأثير فى البروتين الأصلى بواســطة الحــرارة، الحمض، القلوى، وعوامل أخرى كيماوية وطبيعية متنوعة، والتى تسبب تغيرات ملموسة فى تركيب البروتين.

- هو ذلك القسم من التفاعلات التى تؤدى إلى تغيرات فى تركيب جزئيات البروتين الكبيرة بدون تغير فى وزنها الجزيئى.

ويمكن تقسيم الـــ Denaturation الى نوعين:

١- جزيئـــى: عـــبارة عـــن تغيـــرات حقيقية فى التركيب تحدث فى الجزىء.

٢- عملى: تغيرات فى الخواص القياسية.

أمـــا التعريف العام الوحيد للاصطلاح Denaturation of protein فيعـــرف على أنه أى تعديل فى التركيب الثانوى الثلاثى أو الرباعى الجزئى البروتين باستثناء أى تكسير فى رابطة التكافؤ.

كما سبق فى التعريف العام لهذه الظاهرة، كذلك أيضا هناك عدد كبير من العوامل المشتركة المتغيرة (مثل الخواص الطبيعية للبروتينات والعوامل التـــى تـــؤدى إلى التغير فى هذه الخواص، التركيز، pH، القوة الأيونية ودرجة الحرارة).

التغير فى طبيعة البروتين بواسطة العوامل الطبيعية

معظـــم الدراســـات علـــى ظاهرة التغير فى الصفات الطبيعية تتعلق بكـــريات البروتين الذائبة فى الماء، وغالبا كل المعاملات التى تسبب التغير فـــى الصفات الطبيعية أجريت على البروتينات فى محاليلها المائية. ويلاحظ أن ســـرعة التغيـــر فى الصفات الطبيعية للبروتينات المجففة جزئيا غالبا ما تنقص كثيرا كلما أنقصنا المحتوى الكائن لها بشرط أن لا يكون ذلك بواسطة عملـــية التجفـــيف. فـــى حالة البيومين البيض مثلا درجة حرارة التغير فى صـــفاته الطبيعية عرفت على أنها درجة الحرارة التى عندها يصبح نصف البـــروتين غيـــر قابـــل للذوبان فى الماء المقطر بعد مدة التسخين المحددة. ومعـــدل التغيـــر فى الصفات الطبيعية بواسطة التسخين على درجة حرارة معيـــنة نســـبيا يسير موازيا للرطوبة النسبية. فى جليادين القمح يكون تأثير حفـــظ عينة لمدة ساعة واحدة على ٧٠°م أو ٦٠°م يكون له نفس التأثير إذا كان المحتوى الرطوبى ١٨% و ٢٤% على التوالى.

١- التغير فى الصفات الطبيعية بواسطة الحرارة

من أوسع الطرق انتشارا لتغيير الخواص الطبيعية للبروتينات هو تسخينها فى محاليلها المائية، بالرغم من أن التغير فى الصفات الطبيعية بواسطة كل من تأثير الـ pH ودرجة الحرارة مرتبط ارتباطا وثيقا ببعضها البعض غير أنه من الممكن اعتبار أن هذا التغير تغير حرارى خالص. وبالرغم من أن معدل هذا التغير فى الخواص الطبيعية الناتج عن تأثير الـ pH يبين نهاية صغرى واسعة وغالبا بلاتوه Plateaus واسع أيضا. ويمكن الاقتناع بأن هذا المجال الواسع لتأثير الـ pH على تغيير الصفات الطبيعية لبروتينات لا يعتمد عليه فى هذه العملية.

وقد درس التغير فى الصفات لألبيونين البلازما بواسطة الحرارة. وكمثال إذا شحن البيومين سيرم الحصان فى محلول له رقم pH = ٧,٦. يختلف عن الألبيومسين الأصلى فى حجم الجزئيات وشكلها وفى هجرة وحركة الشحنات الكهربائية وتوزيعها على الجزىء، وفى قابليتها للهضم بواسطة إنزيم التربسين.

وبتعديل رقم pH من ٧,٦ إلى ٥,٠٠ تسبب بلمرة زائدة وبدون تغير محسوس فى القابلية للهضم بواسطة إنزيم التربسين. وقد لوحظ أن التغير الناتج عن درجة حرارة متوسطة. يحدث جمع لجزئيات البروتينات، ويعتمد هذا التجمع على درجة الحرارة ومدة التسخين. عند درجات ثابتة من التركيز والـ Ph ومدة التسخين فإن طول الجزىء يزيد زيادة درجة الحرارة، بينما عند درجة حرارة ثابتة فإن الجزىء يزداد فى الحجم كمعاملة حرارية مستمرة، وهذا الحجم المتجمع يعتمد على رقم الـ pH: بين pH ٦,٧، pH ٨,٠٠ طول الجزئيات ينقص بينما بين pH ٣,٥ إلى ٤,٦ الطول الجزيئى يزداد. وفى البروتينات المركزة بمقدار كبير فإن التجمع فى جزيئات البروتين يقود إلى حالة جيلية تماثل المحاليل الجيلاتينية المبردة. كما أن طبيعة الأيونات تلعب دورا جزئيا فى عملية تجميع البروتينات.

كمـــا أن التغيـــر غير العكسى فى الخواص الطبيعية بواسطة الحرارة لبروتين الكيموتربسينوجن Chymotry psinogen الذى يمكن الحصول علـــيه بواسطة التحليل بالقوة الطاردة المركزية العالية ultracentrefugal ينـــتج عـــنه تجمع (تجلط) للبروتين الذى تغيرت خواصه الطبيعية و الذى يزداد بسرعة عند ارتفاع رقم الـــ pH أكثر من ٤,٠٠.

وعند pH = ٣ ودرجة حرارة ٥٦°م عمليا لا يحدث تغير غير عكسى فى الخواص الطبيعية للبروتين عندما يكون تركيزه أقل من ٢ ملجم / مل.

وعـــند pH ٢,٥ ٣,٠٠ ودرجـــة حـــرارة تتراوح بين ٢٠ ٥٠°م يحـــدث تغيـــر عكســـى للخـــواص الطبيعـــية للكيموربســـينوجين chymotrpsinogen. والبـــروتين يبين تحولاً عكسياً حاداً عند ٣٨ ٤٠°م وقد عرف أنه بين ٢٠م، ٣٨م فإن الجزىء يمدد مع تكوين تجويف داخلى.

وبالتسخين فى محلول منظم عند pH فان قابلية الفاكازين لامتصاص الأشـــعة الفـــوق بنفسجية تظل ثابتة بدون تغير بينما مقدار هذا الامتصاص بالنسبة لبيتا كازين يزداد، وفى الناحية الأخرى فإن ثابت الترسيب و الذوبان والقابلـــية للهضم بواسطة التربسين يحدث لهم تعديل وتغير فى الالفا كازين بينما لا يحدث هذا فى حالة البيتا كازين.

وبواســـطة الأدســـتين edestin المسخن على ٩٨م لمدة ٢٠ دقيقة فى محلول ثلث مشبع من كبريتات الصوديوم يتم التجمع عند pH ٤,٦ وأقل من ذلـــك، عـــند pH ٥,٨ ٧,٨ فإن ٩٥% أو أكثر يظل ذائباً فى المحلول. وعـــند pH أعلـــى يحدث تجمع جزئى بنهاية عظمى pH = ١٠ بين ٥,٨، ٦,٣ إذا بـــرد المحلـــول الساخن يحدث ترسيب، وبين pH ٦,٣ ٧,٨ لا يحدث ترسيب عند التبريد بعد التسخين.

وقـــد لـــوحظ تغيـــر فـــى مجموعة الأمينو فى بعض الحالات القليلة الخاصـــة. فمثلا تسخين محلول ٠,٢ ٠,٥% من البيومين سيرم البقر على درجـــة حـــرارة ١٠٠م لمـــدة ساعة وعند pH ٧,٥ يسبب تكسير ٥% من مجمـــوعات الأميـــنو، ولـــم يتم حتى الآن معرفة إذا كان ضالة هذه النسبة

يرجع الى إلتحليل المائى للسلاسل العديدة الببتدية بالتسخين الطويل أو يرجع إلـــى تكـــوين روابط ببتيدية بين مجموعة الأمينو لحمض الليسين Lysine ومجمـــوعة الكـــربونيل لحمض الأسبارتيك أو حمض الجلوتاميك، كما كان يعتقد سابقا.

٢- التغير فى الخواص الطبيعية بواسطة الضغط المرتفع

إن التغير فى الخواص الطبيعية بواسطة الضغط المرتفع قد درس فى بعـــض الحالات فقد أوضحت أن نشاط إنزيمى الببسين والرينين يقل بارتفاع الضغط لمدة محددة.

ويقـــل تمامـــا عـــند ضغط يتراوح بين ٥٠٠٠ ٦٠٠٠ كجم / سم^{٢} ونشـــاط هـــذه الإنزيمات يقل أيضا ولكن بدرجة أقل عند زيادة الوقت الذى تتعرض له عند ضغط ثابت.

عـــند أقـــل مـــن pH ٤,٠٠ لا يتأثـــر بالضـــغط كـــل من التربسين أو الكيموتربسين أما فوق PH ٤ فيزداد عدم نشاط هذه الإنزيمات بزيادة الـــ pH حتـــى يصل إلى النهاية العظمى عند pH ٧,٦، ولذلك عند تعرض كل مـــن الببسين، والكيموتربسين لضغط ٧٧٥٠ كجم / سم^{٢} عند pH ٥,٠٠ ٥,٢ فإنهـــا تفقـــد نشـــاطها بمقدار ٥٠% فى مدة لا تزيد عن خمس دقائق، والتعرض لمدة تصل إلى ساعة واحدة أو على ضغط حتى ٩٢٠٠ كجم /سم^{٢} لا يحدث زيادة فى نسبة عدم النشاط.

عـــند pH ٧,٦ فإن التربسين يصل إلى درجة تثبيط بواسطة الضغط المـــرتفع أكثـــر وأسرع من الكيموتربسين، ولذلك فإن التعكير يلاحظ عند ضغط ٦٣٠٠ كجم / سم^{٢} بواسطة الكيموتربسين وليس بواسطة التربسين.

بواســـطة ضغوط تتراوح ما بين ١٠٠٠ ٧٥٠٠ كجم / سم^{٢} تتجمع (تجـــبن) محالـــيل البيومين السيرم المعتدلة كهربيا ودرجة هذا التجمع تكون كبيرة عند ما يزيد هذا الضغط.

فـــى حالـــة محالـــيل البيومين البيض فإن صورة الترسيب توضح أن الـــتجمع يحدث بسرعة بسهولة معاملتها بالضغط المرتفع فى لحظة وصولها

إلـــى نقطـــة الـــتعادل الكهربى عند pH ٤,٨ فإن معدل التغير فى الخواص الطبيعية بواسطة الضغط يصل إلى نهايته العظمى عند هذه النقطة كما يشاهد بواسطة المقاييس الترسيبية.

درجـــة التعكيـــر لمحاليل البيومين البيض المتعرض للضغط عند pH ٦,٠٠، ولمدة ساعة واحدة لا يتأثر عند ضغط أقل من ٣٠٠٠ كجم / سم٢ ولكن تتزايد بواسطة الضغوط الأعلى من ٤٠٠٠ كجم / سم٢ وتحت ضغط من ١٠٠٠ ٤٠٠٠ كجم / سم٢ فإن الأكتين actin يتحول من حالة البلمرة إلـــى الحالـــة الأصلية depolymerization والأكتوميسن المعقد يتحلل إلى مـــركبين بـــدون اتلاف لانزيم ATP ase الموجود بمادة الميوسين. وتحت ضغط عال مستمر فإن الوزن الجزئى ودرجة اللزوجة يتزايدان

٣- تاثير المعاملة الميكانيكية Mechanical treatment

التغيـــر فى التركيب الناتج عن التأثير الميكانيكى يمكن اعتباره ظاهرة تغيـــر فى الخواص الطبيعية، ولذلك فإن استطالة ألياف الشعيرات ينتج عن تغيـــرات تـــركيبية فىالألفاكيرايتين a- ketatin عند ٥%، ٢٥% استطالة بواســـطة تعـــديل معامـــل المرونة وحجم الشعيرة أو طاقة التنشيط الناتجة عن المجهود.

التكسير وإعادة بناء التركيب فى البروتينات عن طريق النفاذية خلال غشـــاء مـــنفذ أحيانا لا يختلف كثيرا عن التغير فى الخواص الطبيعية الناتج عـــن المعاملة الميكانيكية، فمثلا نفاذ البروتينات الليفية والغير ليفية المحببة خـــلال غشـــاء ســـيلوفان غير منفذ يلاحظ أثناء استخدام الفولت المرتفع فى التحلـــيل الكهربى والتجزئة أو التأين إلى تحت وحدات تبدو أنها تحدث أثناء الانـــتقال خلال الأغشية، وفى نفس الوقت يحدث تجمع للتحت وحدات عند الناحية الأخرى من الغشاء.

٤- التغير فى الخواص الطبيعية بواسطة الترددات الصوتية العالية
Ultrasonic denaturation

إن تأثير الموجات الفوق صوتية يؤدى أحيانا إلى تفاعل كيمائى أو إلى تكسير الروابط القوية كما يحدث فى الأنسولين.

فمثلا الأكس هيموجلوبين فى محلول مائى مخفف يتحول سريعا بواسطة الترددات الفوق صوتية إلى ميت هيموجلوبين أو إلى كربوكس هيموجلوبين فى وجود الإيثير، وفى المحاليل الأكثر تركيزا فإن المعاملة بالترددات الصوتية العالية تؤدى إلى انفصال الهيم من الجلوبين، والتغير فى الخواص الطبيعية الناتج عن تردد هذه الموجات الصوتية العالية على البروتينات أمكن معرفته فى أمثلة عديدة، ولهذا تحت تأثير الترددات الصوتية العالية فإن جزئيات الأدستين الغير ملتفة تتجمع وتلتف على صورة حلزونية Coil.

٥- تأثير الإشعاعات Radiations

بالرغم من أن الحقيقة أن الإشعاع فى أكثر الأحيان يسبب تلفا كيماويا لجزيئات البروتين، التأثير الأول يكون غالبا عبارة عن الإخلال بنظام الجزء الأكبر من الجزيئات، هذا التغير التركيبى يكون نتيجة لتهدف الروابط الثانوية Secondary bond بسبب إدخال الشحنات بواسطة التأين.

وكذلك فإن الإشعاعات المسببة للتأين غالبا ما تؤثر فى تكسير Fragmentetion أو تجمع aggregation جزيئات البروتين. ولذلك فإن سلوك الكثير من البروتينات المعاملة بالإشعاع يكون مشابه للسلوك الملاحظ فى التغير الحقيقى فى الخواص الطبيعية true deneturation.

والنواحى الظاهرة للتغير فى الخواص الطبيعية بواسطة الإشعاع تكون متنوعة مثل الأنواع العديدة الأخرى من التغير فى الخواص الطبيعية، كما يشاهد فى الأمثلة الاتية:

- معاملة بروتينات السيرم بالإشعاع بالموجات القصيرة يؤثر فى الزيادة الابتدائية والنقصان التالى (اللاحق) للوزن الجزيئى.

الـــتجمع والتكســير Splitting مرتبطة بالنقصان والزيادة على التوالى فى عدد مجاميع الأمين والكربكسيل الحرة.

- التغير فى الخواص الطبيعية denaturation والتكسير splitting للجــزيئات بواســطة الأشعة الفوق بنفسجية قد درست بعناية لمدة طويلة.

- تجمع coagulation البيومين البيض المتعادل كهربيا قد قسم إلى ثلاث مراحل هى:

١- تغير فى الخواص الطبيعية للجزيئات بواسطة الضوء.

٢- تفاعــل بــين الجــزيئات المتغيرة فى خواصها الطبيعية بواسطة الضوء وبين الماء.

٣- تجمع الجزيئات المتغيرة فى طبيعتها.

طرق تحليل البروتينات

يعتبر تحليل البروتين من الأمور المهمة لعدة أسباب:

١- تقدير النشاط البيولوجى

بعض البروتينات بما فى ذلك الإنزيمات أو المثبطات الإنزيمية ذات علاقة وثيقة بالأغذية، وكمثال لذلك الدور الذى تلعبه الإنزيمات المحللة للبروتين فى طراوة اللحوم، ومثبطات التربسين فى بذور البقوليات.

٢- دراسة الخواص الوظيفية

تلعب البروتينات التى توجد فى الأغذية دورا مهما فى الخواص الوظيفية، وكمثال ذلك glutenins، gliadin فى دقيق القمح المستخدم فى صناعة المخبوزات، الكازين الموجود في اللبن والذى يعتبر أساس صناعة الجبن، البيومين البيض والذى يلعب دورا أساسيا فى تكوين الرغوة.

٣- تقدير المحتوى الكلى من البروتين فى المادة الغذائية.
٤- تركيب الأحماض الأمينية.
٥- المحتوى من بروتين ما يوجد مختلطا مع مواد أخرى.
٦- المحتوى البروتينى خلال عزل وتنقية البروتين.
٧- النيتروجين الغير بروتينى.
٨- القيمة الغذائية. من حيث:

الهضم digestability.
- الميزان النيتروجينى nitrogen balance.
- نسبة كفاءة البروتين Protien efficiency Ratio [PER].

محتوى الأغذية من البروتين

يختلف محتوى الغذاء من البروتين اختلافا واسعا، وتعتبر الأغذية الحيوانية والبقوليات من أحسن المصادر للبروتينات ويوضح الجدول رقم (٣٢) محتوى بعض الأغذية المختارة من البروتين.

جدول رقم (٣٢): محتوي الأغذية ومنتجاتها من البروتينات

Food Item	*Percent Protein (wet weight basis)*
Cereals and pasta	
Rice, brown, long-grain raw	7.9
Rice, white, long-grain, regular, raw, enriched	7.1
Wheat flour, whole-grain	13.7
Corn flour, whole-grain, yellow	6.9
Spaghetti, dry, enriched	12.8
Cornstarch	0.3
Dairy products	
Milk, while, fluid	3.3
Milk, skim, dry	36.2
Cheese, cheddar	24.9
Yoghurt, plain, low fat	5.3
Fruits and vegetables	
Apple, raw, with skin	0.2
Asparagus, raw	2.3
Strawberries, raw	0.6
Lettuce, iceberg, raw	1.0
Potato, whole, flesh and skin	2.1
Legumes	
Soybeans, mature seeds, raw	36.5
Beans, kidney, all types, mature seeds, raw	23.6
Tofu, raw, firm	15.8
Tofu, raw, regular	8.1
Meats, poultry, fish	
Beet, chuck, arm pot roast	18.5
Beef, cured, dried beet	29.1
Cheicken, broilers or fryers, breast meat only, raw	23.1
Ham, sliced, regular	17.6
Egg, raw, whole	12.5
Finish, cod, Pacific, raw	17.9
Finfish, tuna, white, canned in oil, drained solids	26.5

الطرق المختلفة لتحليل وتقدير البروتينات فى الأغذية

١- طريقة كالداهل

أولا: الأساس العلمى

فـــى هذه الطريقة يتم هضم البروتينات والمكونات العضوية الأخرى للمادة الغذائية باستخدام حامض الكبرتيك فى وجود عامل مساعد يتم تحويل النيتروجين العضوى الكلى إلى كبريتات أمونيوم، وناتج الهضم يتم معادلته بالقلـــوى، ثم إجراء عملية التقطير فى محلول حامض البوريك، يتم معايرة أيـــونات الـــبورات المـــتكونة بالحامض معلوم العيارية، حيث تتحول إلى نيتـــروجين فـــى العينة. النتائج المتحصل عليها تعبر عن البروتين الخام فى المادة الغذائية حيث إن النيتروجين له مصادر أخرى غير بروتينية.

قـــام كالـــداهل عـــام ١٨٨٣ بوضع الخطوات الأساسية لهذه الطريقة لتحليل النيتروجين العضوى. وتتضمن الخطوات العامة لهذه الطريقة ما يلى:

١- **الهضم**: باستخدام حامض الكبريتيك مع إضافة مخلوط الهضم من كبـــريتات نحاســـيك وكبـــريتات صوديوم لحدوث الأكسدة التامة وتحويل النيتروجين إلى كبريتات الأمونيوم.

٢- **التقطيـــر**: وذلـــك فـــى جهاز تقطير كالداهل باستخدام ايدروكسيد صوديوم مركزة مع استقبال المقطر فى حمض بوريك.

٣- **التقديـــر**: معايرة الأمونيا المتقطرة بواسطة حمض هيدروكلوريك معلوم التركيز العيارى ثم حساب نسبة النيتروجين والبروتين .

التعديلات التى أدخلت على طريقة كالداهل

١- يـــتم إضافة عوامل مساعدة معدنية مثل الزئبق، النحاس، السلينيوم إلى حامض كبريتيك وذلك للحصول على الهضم التام. وقد وجد أن الـــزئبق هو أفضلها كما وجد أن مخلوطاً من ثانى أكسيد السلينيوم وكبريتات النحاس بنسبة ٣: ١ فعال فى إجراء عملية الهضم، كما تم استخدام مخلوط من النحاس وثانى أكسيد التيتانيوم كعامل مساعد

فـــى عملية الهضم. ويعتبر استخدام ثانى أكسيد التيتانيوم والنحاس أفضل من الزئبق نظرا لسميته الشديدة.

٢- تستخدم كبريتات البوتاسيوم لزيادة نقطة غليان حامض الكبريتيك وذلك لإسراع عملية الهضم.

٣- إضـــافة ثيوكبـــريتات الصـــوديوم إلى ناتج الهضم المخفف وذلك للمســـاعدة فـــى انفراد النيتروجين من الزئبق والذى يعمل لربط الأمونيوم.

٤- يـــتم تقطير الأمونيا مباشرة فى محلول حامض البوريك والمعايرة بحامض معلوم العيارية.

٥- يمكـــن اســـتخدام أجهـــزة القياسات اللونية أو Nesslerization أو الكروماتوجرافـــى الأيونى لقياس الأمونيا المتكونة وذلك لتقدير المحتوى النيتروجينى بعد الهضم.

خطوات التجربة والتفاعلات

- طحن عينة المادة الغذائية الصلبة بحيث تمر من منخل سعة ثقوبه [20 mesh] ويجب أن تكون العينة متجانسة.
- الهضـــم: يـــتم وضـــع العينة فى دورق كالداهل حيث يتم إضافة الحامض والعامل المساعد حتى يصبح لون محتويات الدورق رائقاً شـــفافاً، ونتـــيجة لتفاعل حامض الكبريتيك مع النيتروجين تتكون كبريتات الأمونيوم.

$$\text{البروتين} \xrightarrow[\text{حرارة، عامل مساعد}]{\text{حامض الكبريتيك}} \text{كبريتات الأمونيوم} \quad [١]$$

- خلال عملية الهضم ينفرد النيتروجين البروتينى لكى يكون أيونات الأمونيوم، ويعمل حامض الكبريتيك على أكسدة المواد العضوية ويـــتحد مع الأمونيا المتكونة، يتحول الكربون والهيدروجين إلى CO_2 والماء.

- التعادل والتقطير: يتم تخفيف ناتج الهضم بالماء، ويتم إضافة أيدروكسيد الصوديوم مركزة لمعادلة حامض الكبريتيك. يتم تقطير الأمونيا المتكونة فى محلول حامض اليوريك والذى يحتوى على أزرق المثيلين وأحمر المثيل (دليل كالداهل)
- المعايرة: تعادل محتويات دورق التقطير بواسطة حمض Hcl معلوم العيارية.
- الحسابات: مكافئات Hcl = مكافئات NH_3 = مكافئات N_2 فى العينة .

• يتم إجراء تجربة بلانك لطرح قيمة النيتروجين الموجود فى مواد التفاعل من الناتج الكلى وبالتالى الحصول على النيتروجين الموجود فى العينة فقط.

• % للنيتروجين = $\frac{(\text{ح تجربة} - \text{ح بلانك}) \times \text{عيارية الحمض} \times ١٤ \times ١٠٠}{١٠٠٠ \times \text{وزن العينة}}$

• يتم استخدام عامل لتحويل % للنيتروجين إلى % للبروتين الخام. ومعظم البروتينات تحتوى على ١٦% N_2 ولذا فإن معامل التحويل هو:

$$\frac{١٠٠}{١٦} = ٦,٢٥$$

% للبروتين = $\frac{N_2 \%}{٠,١٦}$ أ، للبروتين = % $N_2 \times ٦,٢٥$

ويوضح الجدول التالى عوامل تحويل النيتروجين إلى بروتين لبعض المواد الغذائية.

	Percent N. protin	Factor
Egg or meat	16.0	6.25
Milk	15.7	6.38
Wheat	18.76	5.33
Corn	17.70	5.65
Oat	18.66	5.36

ثانيا: طريقة البيوريت Biuret method

الأساس العلمى

عندما تكون أيونات النحاسيك معقد على الروابط الببتيدية يتكون لون Violet-purplish (المواد يجب أن تحتوى على الأقل ٢ رابطة بيتدية مثلا البيوريت، الببتيدات الكبيرة، كل البروتينات) وذلك فى وجود ظروف قلوية. وامتصاص اللون المتكون يتم قراءته على طول موجى ٥٤٠ نانومتراً وشدة اللون تتناسب طرديا مع محتوى العينة من البروتين.

خطوات التجربة

١- يتم خلط ١ مل من محلول البروتين (١ - ١٠ ملجم بروتين / مل) + ٥ مل من دليل البيوريت. هذا الدليل يحتوى على كبريتات نحاس، صودا كاوية، طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم والتى تستخدم لتثبيت أيونات النحاسيك فى المحلول القلوى.

٢- بعد أن يترك مخلوط التفاعل لفترة من الوقت كافية لحدوث التفاعل المطلوب على درجتى حرارة الغرفة لمدة ١٥ أو ٣٠ ق، يتم قراءة الامتصاص عند ٥٤٠ نانومتراً فى وجود البلانك المناسب.

٣- يجب إجراء الترشيح أو الطرد المركزى قبل قراءة الامتصاص إذا كان مخلوط التفاعل غير رائق.

٤- يتم عمل منحنى قياسى من تركيزات مختلفة من Bovin (BSA) Serum albumin.

التطبيقات

تـم اسـتخدام هـذه الطـريقة لتقديـر البروتين فى الحبوب، اللحم، بـروتينات الصـويا، وكاختـبار نوعى فى علائق الحيوان، كذلك يمكن استخدام هذه الطريقة في قياس المحتوى البروتيني للبروتينات المعزولة.

المميزات

١- أقل تكلفة من طريقة كالداهل، أسرع وهو من أبسط طرق تقدير البروتين.

٢- التغيـر فـى اللون أقل حدوثا عما فى طريقة Lowry أو الأشعة فوق البنفسجية أو طريقة التعكير.

٣- لا تقـدر النيتروجين الموجود فى المصادر الغير ببتيدية أو الغير بروتينية.

العيوب

١- غير حساسة بالدرجة الكافية مقارنة بطريقة Lowry حيث يحتاج على الأقل ٢ ٤ ملج بروتين.

٢- الامتصاص يمكن أن نعزى الى صبغة صفر له فى حالة وجودها.

٣- وجود تركيز عال من أملاح الأمونيا يتداخل مع التفاعل.

٤- باختلاف نوع البروتين يختلف اللون الناتج فمثلا الجيلاتين يعطى لونا أرجوانيا قرموزيا Pinkish purple colour.

٥- يمكـن أن يحـدث لمعـان فـى المحلول النهائى فى حالة وجود تركيزات عالية من الببتيدات أو الكربوهيدرات.

٦- ليست طريقة مطلقة بمعنى أن اللون الناتج يتم توقيع الامتصاص المقابـل له على منحنى قياس لبروتين معروف أو مقارنة بطريقة كالداهل.

ثالثا: طريقة لورى Lowry method

الأساس العلمى

هــى طــريقة تجمــع مــا بــين تفاعل البيوريت واختزال Folin Ciocaltean phenol بواسـطة متبقـيات الحمـض الأمينــى التيروزين والتــربتوفان فى البروتينات. واللون الأزرق المتكون يتم قراءته على طول موجى ٧٥٠ نانومتراً (شديدة الحساسية للتركيزات المنخفضة من البروتين) أو ٥٠٠ نانومتــر (حساســية منخفض للتركيزات المرتفعة من البروتين). وقــد تــم تعديل الطريقة الأساسية بغرض جعل العلاقة خطية ما بين تركيز البروتين واللون.

خطوات التجربة

١- يــتم تخفــيف البروتين إلى مدى مناسب لإجراء التحليل (٢٠ ١٠٠ ميكروجرام).

٢- يــتم إضــافة محلــول $NaCo_3$ KNa tartarate بعد التبريد والتحضين على درجة حرارة الغرفة لمدة ١٠ ق.

٣- يضــاف محلــول NaOH KNa tartarate $CuSo_4$ بعــد التبريد والتحضين على درجة حرارة الغرفة لمدة ١٠ ق.

٤- يضــاف محلول الفولين حديث التحضير ثم يتم خلط مواد التفاعل والتحضين على ٥٠ْ م / ١٠ ق.

٥- قراءة الامتصاص على طول موجى ٦٥٠ نانومتراً.

٦- يــتم تحضــير منحنى قياس من BSA بدقة وذلك لتقدير تركيز البروتين فى العينات.

التطبيقات

نظرا لبساطة وحساسية طريقة لورى، فهى تستخدم على نطاق واسع فى مجال كيمياء البروتينات، إلا أنها لم تستخدم على نطاق واسع فى مجال

الأغذية بدون أن يتم استخلاص البروتين فى البداية عن باقى مكونات المادة الغذائية.

المميزات

١- شدة الحساسية:

أ ٥٠ ١٠٠ ضعف حساسية طريقة البيوريت.

ب- ١٠ ٢٠ ضعف حساسية طريقة الأشعة فوق البنفسجية.

ج- تبلغ حساسيتها عدة مرات عن طريق النتهيدرين.

د حساسيتها مشابهة لطريقة Nesslerization.

٢- أقل تأثرا بوجود عكارة فى العينة.

٣- أكثر تخصصا من العديد من الطرق الأخرى.

٤- بسيطة نسبيا، يمكن إجراؤها خلال ١ ١,٥ ساعة.

العيوب

١- اختلاف اللون باختلاف أنواع البروتينات وهذا الاختلاف إلى حد ما أكبر مما فى طريقة البيوريت.

٢- لا يتناسب اللون مباشرة مع تركيز البروتين.

٣- يحدث تداخل على التفاعل من مصادر عدة بدرجات مختلفة من السكروز الليبيدات محاليل الفوسفات المنظمة السكريات الأحادية الهكسوامينات.

٤- التركيزات العالية من السكريات المختزلة كبريتات الأمونيوم المركبات التى تحتوى على السلفهيدريل تتداخل مع التفاعل.

رابعا: طريقة Bicinchonınic Acid [BCA]

الأساس العلمى

اختزال أيونات النحاسيك إلى النحاسوز بواسطة البروتين فى الظروف القلــوية. والمعقــدات المــتكونة مـــا بين أيونات النحاسيك مع BCA تعطى لونا apple greenish purplish يتناسب طرديا مع تركيز البروتين.

خطوات التجربة

١- يتم خلط محلول البروتين + دليل BCA الذى يحتوى على BCA Sodium salt (كــربونات صوديوم صودا كاوية كبريتات نحاسيك) مع ضبط pH عند ١١,٢٥.

٢- يــتم التحضـــين على ٣٧م / ٣٠ ق أو درجة حرارة الغرفة / ٢ ســاعة أو ٦٠م / ٣٠ ق، اختيار إحدى درجات الحرارة السابقة يعــتمد علـــى درجة الحساسية المرغوبة حيث إن درجة الحرارة المرتفعة تعطى معدل حساسية أعلى.

٣- قــراءة الامتصــــاص على طول موجى ٥٦٢ نانومتر فى وجود البلانك.

٤- تحضير منحنى قياس باستخدام BSA.

التطبيقات

يتم استخدام طرقة BCA فى حالات عزل وتنقية البروتينات.

المميزات

١- طريقة حساسية مقارنة بطريقة لورى، حساسية طريقة micro BCA (٠,٥ ١٠ ميكروجرام) أفضل قليلا من طريقة لورى.

٢- خلط مواد التفاعل فى خطوة واحدة وهذا أسهل من طريقة لورى.

٣- دليل BCA أكثر ثباتا من دليل لورى.

٤- المنظفات غير الأيونية والأملاح المنظمة لا تتداخل مع التفاعل.

٥- التركيزات متوسطة من الكواشف المدنترة denaturing reagents (٤ مولر جوانيدين Hcl أو ٣ مولر يوريا) لا تسبب تداخلا.

العيوب

١- اللون غير ثابت بمرور الوقت ولذلك يجب حساب الزمن بدقة.

٢- السكريات المختزلة تتداخل مع التفاعل إلى حد كبير كما فى طريقة لورى، كذلك فإن التركيزات المرتفعة من كبريتات الأمونيوم تسبب التداخل.

٣- اختلاف اللون باختلاف أنواع البروتينات مشابهة فى ذلك لطريقة لورى.

٤- العلاقة ما بين الامتصاص وتركيز البروتين ليست خطية.

خامسا: امتصاص الأشعة الفوق بنفسجية عند طول موجى ٢٨٠ نانومترا

UV 280 nm / Absorption method

تتميز البروتينات بقدرتها الكبيرة على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجى ٢٨٠ نانومترا ويرجع ذلك أساسا لباقى الأحماض الأمينية النيروزين والتربتوفان فى البروتينات. ونظرا لأن محتوى البروتين الموجود فى المادة الغذائية من التيروزين والتربتوفان ثابت نسبيا، فإن الامتصاص على طول موجى ٢٨٠ نانومترا يمكن أن يستخدم فى تقدير تركيز البروتينات، باستخدام قانون Beer وحيث إن كل بروتين له تركيب استثنائى من الأحماض الأمينية العطرية unigue aromatic amino acid compostion فإن extinction coefficient molar molar absorpticity [Em]، [E_{280}] يجب أن تقدر لكل بروتين على حدة عند تقدير المحتوى البروتينى.

خطوات التجربة

١- يتم إذابة البروتين فى محلول منظم أو قلوى.
٢- يتم قراءة الامتصاص لمحلول البروتين على طول موجى ٢٨٠ نانومتراً فى وجود البلانك.
٣- يتم حساب تركيز البروتين من المعادلة التالية:

$$A = a\,b\,c$$

حيث :Where A = absorbance
a = absorptivity
B = cell or cuvette path length
C = concentration

التطبيقات

تم استخدام قدرة البروتين على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجى ٢٨٠ نانومتراً لتقدير محتوى اللبن ومنتجات اللحوم من البروتين إلا أنها لم تستخدم بصورة موسعة فى الأغذية، وهذه الطريقة تعطى نتائج جيدة مع المواد التى تحتوى على البروتين فى صورة نقية أو البروتينات التى تم استخلاصها فى قلوى فى المواد المسببة للدنترة مثل اليوريا بتركيز ٨ مولر. وعلى الرغم من أن الروابط الببتيدية الموجودة فى البروتينات تزيد قدرته علي الامتصاص عند الطول الموجى ١٩٠ ٢٢٠ نانومتراً عنه عند ٢٨٠ نانومتر فإنه من الصعب قياسها فى مدى منخفض من الـ UV.

المميزات

١- طرقة سريعة حساسة نسبيا.
٢- لا يحدث تداخل من كبريتات الأمونيوم والأملاح المنظمة الأخرى.
٣- لا تسبب أى تدمير للبروتين أو تغير فى التركيب، يمكن استخدام العينات لإجراء تحليلات أخرى بعد تقدير % البروتين.

العيوب

١- الأحماض النووية لديها القدرة أيضا على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي ٢٨٠ نانومتراً. النسبة ما بين الامتصاص عند ٢٨٠ نانومتر إلى الامتصاص عند ٢٦٠ نانومتراً للبروتين النقي والأحماض النووية هي ١,٧٥، ٠,٥ على التوالي. يمكن تصحيح الامتصاص الخاص بالأحماض النووية عند طول موجي ٢٨٠ نانومتراً إذا ما كانت النسبة ما بين الامتصاص عند ٢٨٠ نانومتراً الى الامتصاص عند ٢٦٠نانومتراً معروفة. كذلك فإن الأحماض النووية يمكن تصحيح الامتصاص الخاص بها باستخدام طريقة تعتمد على اختلاف الامتصاص ما بين ٢٣٥ نانومتراً، ٢٨٠ نانومتراً.

٢- يختلف محتوى البروتينات فى الأغذية المختلفة من الأحماض الأمينية العطرية اختلافا معنويا.

٣- يجب أن يكون المحلول رائقاً شفافاً. وجود العكارة فى المحلول يسبب زيادة الامتصاص وبالتالى نتائج خاطئة.

٤- استخدام هذه الطريقة يتطلب توافر نظام على موجة عالية من النقاوة نسبيا.

سادسا: الارتباط بالصبغات **Dye binding method**

الارتباط بالصبغات الأنيونية **Anionic Dye binding**

الأساس العلمى

يتم خلط العينة التى تحتوى على البروتين مع كمية تكفى، وزيادة من الصبغة الأنيونية فى محلول منظم حيث ترتبط البروتينات مع الصبغة لتكوين معقد غير ذائب، أما الصبغة الذائبة الغير مرتبطة مع البروتين (الزيادة من الصبغة) يتم قياسها بعد التفاعل وإزالة المعقد الغير ذائب بالطرد المركزى أو الترشيح.

إن الـ amionic sulfonic acide dye تشمل orange G، acid orange 12، Amido lack 10B تـرتبط مـع المجامـيع الكاتيونـية الموجـودة فـى باقـى الحمـض الأمينى (مثل مجموعة imidazole فى الحـامض الأمينـى الهيستدين، الجوانيدين فى الحامض الأمينى الأرجنين، مجمـوعة الأمين فى الوضع الفراغى أوميجا فى الحامض الأمينى ليسين) ومجمـوعة الأمـين الطـرفية الحرة فى البروتين. وتتناسب الصبغة الغير مرتبطة تناسبا عكسيا مع محتوى العينة من البروتين.

خطوات التجربة

١- يـتم نخـل للعينة بعناية فى منخل سعة ثقوبه [100 mech] أو أحجام أقل من ذلك ويتم إضافتها إلى محلول الصبغة.

٢- يتم الرج جيدا ثم الترشيح والطرد المركزى .

٣- يـتم قياس الامتصاص الخاص بمحلول الصبغة الغير مرتبطة فى الراشح وتقدير تركيز الصبغة من منحنى قياسى لها.

٤- يمكـن الحصول على منحنى قياسى مستقيم بتوقيع تركيز الصبغة الغيـر مرتبطة على محول وعلى المحور الآخر قيم النيتروجين الكلـى (المقدرة بطريقة كالداهل) لمادة غذائية (نسبة البروتين بها أكبر من نسبة البروتين فى العينة).

٥- المحـتوى البروتينـى للعيـنة محل الاختبار من نفس نوع المادة الغذائـية يمكـن الحصـول علـيه مـن المنحنى القياسى أو من regression equation محسوبة بطرقة Last square.

التطبيقات

يتم استخدام هذه الطريقة لتقدير محتوى اللبن، دقيق القمح، منتجات الصـويا، اللحوم من البروتين وتشتمل الـ AOAC على طريقتين لتقدير البـروتين بطريقة الارتباط بالصبغات إحداهما تستخدم Acid Orange 12 والثانية تستخدم Amido black B 10 وذلك لتقدير البروتين فى اللبن.

المميزات

١- سريعة (تحتاج ربع ساعة أو أقل)، منخفضة التكاليف، دقيقة نسبيا.

٢- قد تستخدم فى تقدير التغيرات فى محتوى منتجات الحبوب من الليسين المتاح خلال التصنيع حيث إن الصبغة لا ترتبط مع الليسين الغير متاح. ونظرا لأن الليسين هو الحامض الأمينى الفعال فى منتجات الحبوب فإن المحتوى من الليسين المتاح يمثل القيمة الغذائية لهذه المنتجات.

٣- مواد التفاعل لا تسبب أضرارا للقائم بالتجربة.

٤- لا تقدر النيتروجين الغير بروتينى.

٥- أكثر دقة من طريقة كالداهل.

العيوب

١- غير حساسة حيث يتطلب إجراؤها ملليجرامات من البروتين.

٢- تختلف البروتينات فى محتواها من الحامض الأمينى الفعال وبذلك تختلف فى قدرتها على الارتباط مع الصبغة، وبذلك تظهر أهمية وجود منحنى قياس لكل مادة غذائية.

٣- بعض المكونات الغير بروتينية ترتبط مع الصبغة (مثل النشا) أو البروتين (مثل الكالسيوم، الفوسفات) وبالتالى تعطى نتائج غير صحيحة. والمشكلة فى حالة الكالسيوم وأيونات المعادن الثقيلة يمكن تجنبها عن طريق استخدام Properly buffered reagent يحتوى على حامض الأكساليك.

سابعا: طريقة برادفورد Bradford method

الأساس العلمى

عندما ترتبط صبغة Coomassie Brilliant Blue G. 250 مع البروتين يتغير لون الصبغة من البنى المحمر [redish] إلى المائل للزرقة،

ويرتفع أقصى امتصاص للصبغة من ٤٦٥ ٥٩٥ نانومتراً ويتناسب التغير في الامتصاص عند ٥٩٥ نانومتر مع تركيز البروتين فى العينة.

خطوات التجربة

١- يتم إذابة Coomassie Brilliant Blue G. 250 في كحول إيثانول ٩٥% والتحميض باستخدام حامض الفوسفوريك ٨٥%.
٢- خلط العينات التى تحتوى على البروتين (١ ١٠٠ ميكروجرام / مل) والمحاليل القياسية من BSA مع دلل برادفورد.
٣- قراءة الامتصاص على ٥٩٥ نانومتراً في وجود البلانك.
٤- تركيز البروتين فى العينة يتم تقديره من منحنى BSA القياسى.

التطبيقات

تم استخدام هذه الطريقة بنجاح لتقدير محتوى البيرة ودرنات البطاطس من البروتين. ولقد تم تطوير هذه الطريقة لتقدير البروتينات بكميات تصل الى الميكروجرام. ونظرا لسرعة إجرائها وحساسيتها وقلة التداخلات مقارنة بطرقة لورى، فإن طريقة برادفور تستخدم بصورة واسعة فى عملية تنقية البروتين.

المميزات

١- طريقة سريعة حيث يمكن إتمام التفاعل خلال ٢ ق.
٢- حساسة حيث إنها أكثر حساسية من طريقة لورى عدة مرات.
٣- عدم حدوث تداخل من الكاتيونات مثل Mg^{2+}، Na^+، K^+.
٤- لا يوجد تداخل من كبريتات الأمونيوم.
٥- لا يوجد تداخل من البولى فينول والكربوهيدرات مثل السكروز.
٦- تقدر البروتين أو الببتيدات ذات الوزن الجزيئى ٤٠٠٠ دالتون أو أكثر.

العيوب

١- تداخل مع المنظفات الأيونية والغير أيونية مثل Triton X- 100 والصوديوم دوديسيل سلفات. وبوجه عام فإن الأخطاء التى تحدث بسبب الكميات الصغيرة (٠,١%) من هذه المنظفات يمكن تصحيحها باستخدام proper control.
٢- معقد الصبغة والبروتين يمكن أن يلتصق بالخلايا المصنوعة من الكوارتز ولذلك يتم استخدام خلايا من البلاستيك أو الزجاج.
٣- اختلاف اللون باختلاف أنواع البروتينات ولذلك يجب اختيار البروتين القياسى بدقة متناهية.

ثامنا: طريقة النهيدرين Ninhydrin method

الأساس العلمى

تتفاعل الأحماض الأمينية، الأمونيا ومجاميع الأمين الأولية الموجودة فى البروتين فى محلول منظم pH ٥,٥ مع وجود النهيدرين hydrindntin فإنها تكون Ruhemam purple colour.

خطوات التجربة

١- يتم خلط ١ مل من محلول العينة مع ١ مل من محلول النهيدرين فى أنبوبة اختبار .
٢- توضع الأنبوبة فى حمام مائى يغلى لمدة ١٥ ق.
٣- يضاف ٥ مل من الإيثانول أو البروبانول المخفف، ثم الرج والتبريد.
٤- تقدير الامتصاص على طول موجى ٥٧٠ نانومترا .

التطبيقات

استخدمت هذه الطريقة بصورة واسعة فى تقدير محتوى المواد الغذائية من البروتين. وبوجه عام، فإنه يمكن استخدامها فى تقدير التحلل المائى

للـــروابط الببتـــيدية خلال عمليات تصنيع الأغذية وللتقدير الكمى للأحماض الأمينية.

المميزات

سريعة نسبيا مقارنة بطريقة كالداهل.

العيوب

١- وجـــود كمـــيات صـــغيرة مـــن الأحماض الأمينية، الببتيدات، الأميـــنات الأولـــية، الأمونـــيا بســـبب تقدير أكبر من الحقيقى للبروتين.
٢- انخفاض الدقة.
٣- تجهيز منحنى قياسى فى كل مرة يتم فيها تقدير البروتين.
٤- باخـــتلاف تركيب الأحماض الأمينية يختلف اللون الناتج. فأقصى امتصـــاص للبـــرولين عـــند ٤٤٠ نانومتـــراً فى حين أن أقصى امتصاص للأحماض الأمينية الأخرى عند ٥٧٠ نانومتر.

تاسعا: طريقة قياس العكارة Turbidimetric method

الأساس العلمى

اســـتخدام التركيـــزات المنخفضة (٣ ١٠%) من حامض TCA، حامض سالفو ساليسليك والبوتاسيوم فيريسيانيد فى حامض الخليك فى ترسيب البـــروتين المســـتخلص، وذلك لتكوين معلق عكر من جزيئات البروتين. إن التعكيـــر الحـــادث يمكـــن تقديره من خلال النقص الحادث فى نفاذية الأشعة والراجع إلى تشتتها بواسطة جزيئات البروتين. وبالتالى يمكن إيجاد علاقة ما بين شدة النقص الحادث فى نفاذية الأشعة وتركيز البروتين فى المحلول.

خطوات التجربة

فـــيما يلـــى خطـــوات التجربة لتقدير بروتينات القمح بطريقة حامض السلفوساليسيك.

١- يتم استخلاص دقيق القمح بواسطة هيدروكسيد الصوديوم ٠,٠٥ ع

٢- بواسطة الطرد المركزى يتم فصل البروتين الذائب فى القلوى عن المواد الغير ذائبة.

٣- يتم خلط حامض السلفوساليسليك مع جزء من محلول البروتين.

٤- يتم تقدير درجة التعكير بواسطة قراءة النفاذية عند ٥٤٠ نانومترا مقابل البلانك المناسب.

٥- يمكـن تقدير محتوى العينة من البروتين من منحنى قياسى والذى يتم تحضيره باستخدام طريقة كالداهل.

التطبيقات

هذه الطريقة تم استخدامها فى تقدير البروتين فى دقيق القمح والذرة.

المميزات

١- سريعة يمكن إجراؤها خلال ١٥ ق.

٢- لا تقـدر النيتـروجين الغيـر بروتينى بخلاف ذلك الموجود فى الأحماض النووية.

العيوب

١- البروتينات المختلفة تترسب بمعدلات مختلفة.

٢- اختلاف التعكير الحادث باختلاف تركيز مواد التفاعل الحامضية.

٣- الأحماض النووية أيضا تترسب بواسطة مواد الحامضية.

عاشرا: طريقة دوماس (الاحتراق)

Dumas [combustion] method

الأساس العلمى

يـتم حـرق العينات على درجات حرارة مرتفعة (٧٠٠ ٨٠٠°م). النيتـروجين المنفرد يتم تقديره كميا بواسطة كروماتوجرافى الغاز باستخدام كاشف التوصيل الحرارى Thermal conductivity detecor (TCD) ثم يتم تحويل النيتروجين إلى محتوى العينة من البروتين.

خطوات التجربة

يتم وزن العينة (١٠٠ ٥٠٠ ملجم) فى كبسولات قصديرية ثم يتم حـرقها فـى جهـاز خـاص، النيتـروجين المنفـرد يتم قياسه بواسطة كروماتوجرافى الغاز والمتصل مع الجهاز السابق.

التطبيقات

طريقة مناسبة لكل أنواع المواد الغذائية

المميزات

١- طريقة بديلة لطريقة كالداهل.

٢- لا تحتاج لمواد كيماوية خطيرة على القائم بالتجربة.

٣- إتمام التجربة خلال ٣ ق.

٤- الأجهـزة الحديثة فى هذا المجال يمكنها تحليل حوالى ١٥٠ عينة بدون أى جهد.

العيوب

١- ارتفاع سعر الجهاز.

٢- يدخل ضمن التقدير أيضا النيتروجين الغير بروتينى.

إحدى عشر: طريقة التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء

Infrared Spectroscopy method

الأساس العلمى

تعـتمد هذه الطريقة على قياس مدى امتصاص الأشعة تحت الحمراء (فى المناطق القريبة أو المتوسطة) بواسطة الجزيئات أو المواد الأخرى التى تـوجد فى المواد الغذائية. والعديد من المجاميع الوظيفية فى المواد الغذائية تمتص ترددات مختلفة من الإشعاع.

وفي حالة البروتينات والببتيدات فإن الخصائص المميزة للرابطة الببتيدية يمكن أن تستخدم في تقدير محتوى المادة الغذائية من البروتين. وعندما يتم تسليط الأشعة تحت الحمراء على عينة ما فإن الطول الموجي للأشعة يجب أن يتناسب مع المكون المراد قياسه ومن الممكن التنبؤ بتركيز هذا المكون وذلك عن طريق قياس الطاقة التي تنعكس أو التي تنفذ بواسطة العينة (والتي ترتبط بعلاقة عكسية مع الطاقة الممتصة).

التطبيقات

يستخدم Mid IRspectroscopy تحليل اللبن بالأشعة تحت الحمراء لتقدير محتوى اللبن من البروتين في حين أن Near IR spectroscopy يستخدم مع العديد من الأغذية (الحبوب اللحوم منتجات الألبان). والأجهزة مرتفعة الثمن ويجب معايرتها بدقة إلا أن العينة يتم تحليلها بسرعة (٣٠ ق ٢ ق).

مقارنة بين الطرق المختلفة لتقدير البروتين

تحضير العينة

تحتاج طرقة كالداهل الأشعة تحت الحمراء و Dumas إلى القليل من الجهد لتحضير العينات، حيث يجب أن يكون حجم جزيئات العينة في حدود 20 mesh أو أقل من ذلك. وبعض الأجهزة الحديثة التي تستخدم الأشعة تحت الحمراء يمكنها أن تقيس مباشرة البروتين في الحبوب بدون إجراء عملية الطحن أو تجهيز العينة. أما الطرق الأخرى فإنها تحتاج أن تكون العينة في حدود حبيبات دقيقة لاستخلاص البروتينات عن باقي مكونات المادة الغذائية.

الأساس

طريقة كالداهل، Dumas تقدر مباشرة كمية النيتروجين العضوى الكلية في المواد الغذائية على حين أن الطرق الأخرى تقدر الخواص المختلفة للبروتينات. وكمثال فإن طريقة البيوريت تقدر الروابط الببتيدية، كما أن طريقة لورى تقدر مزيج من الروابط الببتيدية والأحماض الأمينية

التـــربتوفان التيروزين. إن طريقة الأشعة تحت الحمراء هى طريقة غير مباشرة لتقدير المحتوى من البروتين و التى تعتمد على الطاقة الممتصة عندما تتعــرض العيـــنة لطـــول موجى معين من الأشعة تحت الحمر اء متخصص لرابطة ببتيدية.

الحساسية

طـــريقة كالـــداهل، Dumas، البيوريت، الارتباط بالصبغات أقل حساسية من طرق الأشعة فوق البنفسجية، لورى، BCA، برادفورد.

السرعة

بعد أن يتم معايرة الجهاز بدقة فإن طريقة الأشعة تحت الحمراء تعتبر مـــن أسرع طرق تقدير البروتين، وفى أغلب الطرق الأخرى التى تتضمن القياسات اللونية يجب أن يتم فصل البروتينات عن المواد الغير ذائبة التى قد تـــتداخل مع اللون المتكون نتيجة التفاعل. وبوجه عام فإن سرعة التقدير فى الطرق اللونية وفى طريقة Dumas أكبر من طريقة كالداهل.

اعتبارات خاصة

١- لاختـــيار طـــريقة معيـــنة لتطبيق ما يجب أن يؤخذ فى الاعتبار حساســـية، دقـــة، reproducibility هـــذه الطـــريقة وكـــذلك الخواص الفيـــزوكيماوية للمـــادة الغذائية محل الاختبار. النتائج يجب أن تترجم بدقة لتعكس ما يتم قياسه فعليا.

٢- طـــرق معاملة الأغذية مثل التسخين قد تقلل من قابلية استخلاص البـــروتينات لتحلـــيلها وبالتالى تسبب تقدير أقل من الحقيقى لمحتوى المادة الغذائـــية مـــن البـــروتين عند تقديره بالطرق الأخرى التى يوجد بها خطوة الاستخلاص.

٣- إن كـــل الطـــرق فـــيما عـــدا كالداهل، Dumas والأشعة فوق البنفســـجية للبـــروتينات المنقاة تحتاج إلى بروتين قياسى أو المقارنة بالنتائج المتحصـــل علـــيها من طريقة كالداهل. وفى حالة الطرق التى يستخدم فيها بـــروتين قياســـي فإن البروتينات التى توجد فى العينـــات يفترض بأنها لها

تــركيب وسلوك متشابه مقارنة بالبروتين القياسى، وإنه لمن الأهمية بمكان اختيار بروتين قياسى مناسب لكل نوع من أنواع المواد الغذائية.

٤- النيتــروجين الغيــر بروتينى، يوجد على الأخص فى كل المواد الغذائية. لتقدير النيتروجين البروتين فإنه يتم استخلاص العينات فى ظروف قلــوية ثــم الترسيب باستخدام حامض TCA وحامض سلفوسليسليك، مع الأخذ فى الاعتبار أن تركيز الحامض المستخدم يؤثر على الكمية المتحصل علــيها بعد الترسيب. ولذلك فإن محتوى المادة الغذائية من النيتروجين الغير بروتينى يمكن أن يتغير بتغير تركيز ونوع الدليل المستخدم.

التســخين يمكــن أن يستخدم للمساعدة فى ترسيب البروتين بالحامض أو المذيــبات العضوية الأخرى، وبالإضافة إلى طرق الترسيب بالأحماض المســتخدمة فــى تقدير النيتروجين الغير بروتينى فإنه يمكن استخدام طرق أخــرى ولكــن علــى نطــاق أضــيق مــثل الديلــزة والترشــيح الفائق والكروماتوجرافى لفصل البروتينات عن المواد الغير بروتينية.

٥- عــندما يــتم تقدير القيمة الغذائية للبروتينات الموجودة فى المادة الغذائــية والتــى تتضــمن تقدير القابلية للهضم ونسبة كفاءة البروتين، فإن طــريقة كالداهل مع معامل تحويل ٦,٢٥ عادة ما تستخدم لتقدير المحتوى من البروتين الخام. كما إن PER يمن أن يكون تقديرها أقل من الحقيقى فى حالة وجود كميات معنوية من النيتروجين الغير بروتينى فى المادة الغذائية. ويلاحــظ أن عينة المادة الغذائية التى تحتوى على قدر كبير من النيتروجين الغيــر بــروتين قد يكون لها PER منخفض عن عينة أخرى تحتوى على بــروتين له نفس التركيب، وعلى الرغم من ذلك فإنها أقل فى محتواها عن النيتروجين الغير بروتينى.

فصل البروتين

عـــادة تستخدم العديد من تقنيات الفصل فى تتابع لتقنية بروتين ما من الغـــذاء وكلمـــا ازدادت خطوات الفصل المستخدمة ازداد نقاء المستحضر. ولتحضير بروتين نقى لدراسة معملية غالبا ما يكون ضروريا استخدام ثلاث خطوات فصل أو أكثر فى تتابع لنحصل على مستحضر بروتينى نقى.

مـــن الضـــرورى أن نعـــرف الكثيـــر بقـــدر الإمكان عن الخواص البيوكيميائـــية للبروتين مثل الوزن الجزيئى، نقطة التعادل الكهربى (P I)، خـــواص الـــذوبان، وحـــرارة التحلل، لكى نحدد أى خصائص فيزيائية غير معـــتادة من شأنها جعل الفصل أكثر سهولة. غالبا ما يستخدم فى هذه التقنية خواص الذوبان المختلفة للبروتين

طرق فصل البروتين

١- الفصل بواسطة خصائص الذوبان المختلفة

الفصـــل بالترســـيب يستغل خصائص الذوبان المختلفة للبروتينات فى المحلـــول، البـــروتينات تكـــون polyelectrolytes وبذلك فإن خصائص الـــذوبان تقـــدر بواسطة نوع وشحنة الأحماض الأمينية فى الجزئى ويمكن ترســـيب البـــروتينات أو تحويلها للصورة الذائبة بتغيير pH الـــ Buffer، القـــوة الأيونية، ثابت الـــ dielectric أو الحرارة. تقنيات الفصل هذه تكون ذات ميزة عندما تعمل على كميات كبيرة من المادة، حيث إنها سريعة نسبيا، ولا تتأثر عادة بالمكونات الأخرى للغذاء. تقنيات الترسيب تستخدم عادة أثناء المراحل المبكرة لتتابع التقنية.

٢- الطرق

أ Salting out

البـــروتينات لهـــا أنمـــاط ذوبان فريدة فى محاليل الأملاح المتعادلة. والتركيزات المنخفضة للأملاح المتعادلة عادة ما تزيد من ذوبان البروتينات مـــع ذلـــك تترسب البروتينات من المحلول كلما ازدادت القوة الأيونية. هذه

الخاصـية يمكن أن تستخدم لترسيب بروتين ما من خليط مركب. وتستخدم سـلفات الأمونيوم [$(NH_4) SO_4$] عادة بسبب ذوبانها العالى، على الرغم مـن أن الأملاح المتعادلة الأخرى مثل Nacl أو Kcl يمكن أن تستخدم فى ترسـيب salt out البـروتينات وعامة طريقة الخطوتين تستخدم لمضاعفة كفاءة الفصل. فى الخطوة الأولى، يضاف [$(NH_4) SO_4$] بتركيز أقل قليلا مـن الـذى نحتاجه لترسيب البروتين المطلوب. عند استخدام القوة الطاردة المركـزية مـع البـروتين، يترسب البروتينات الأقل ذوبانا بينما البروتين المطلوب يبقى فى المحلول. الخطوة الثانية تتم عند تركيز $[(NH_4)_2 \ SO_4]$ أعلـى قلـيلا من المرغوبة لترسيب البروتين المطلوب وعند استخدام القوة الطـاردة المركـزية مـع البـروتين، تترسب البروتينات الأقل ذوبانا بينما البـروتين المطلـوب يبقى فى المحلول. ويترسب البروتين بينما البروتينات الأكثـر ذوبانا تظل فى الجزء العلوى من المحلول supermatant. وهناك عـيب واحـد لهـذه الطريقة هو أن كميات كبيرة من الملح تلوث البروتين المترسب ويجب إزالتها غالبا قبل إعادة ذوبان البروتين فى الـ Buffer.

ب- الترسيب متعادل الكهربية

تعرف نقطة التعادل الكهربى (PI) بأنها الـ pH الذى لا يكون عنده للبـروتين شحنة صافية فى المحلول. وتتجمع البروتينات وتترسب عند الـ pH لأنـه ليس هناك تنافر الكتروستاتيكى بين الجزيئات البروتينية لها PI مخـتلفة (نقـاط تعادل كهربية مختلفة) وبذلك يمكن فصلها عن بعضها عن طريق ضبط pH المحلول. وعند ضبط PI المحلول عند PI لبروتين ما فإنه يترسـب بيـنما تظـل البروتينات ذات الـ P I المختلفة ذائبة فى المحلول. والبروتين المترسب يمكن إعادة ذوبانه فى محلول اخر ذي pH مختلف.

ج التجزئة بالمذيبات

ذوبـان البـروتين عـند pH وقوة أيونية ثابتة هو وظيفة ثابت الـ dielectic constant للمحلول. ولذلك فإن البروتينات يمكن أن تفصل على أسـاس اخـتلاف الـذوبان فى خليط ماء مذيب عضوى. وتؤدى إضافة

المذيبات العضوية القابلة للذوبان فى الماء مثل الأيثانول أو الأسيتون إلى انخفاض ثابت التوصيل الكهربائى للمحلول المائى كما يقلل من ذوبان معظم البروتينات. وتقلل المذيبات العضوية تأين الأحماض الأمينية المشحونة مما يؤدى لتجمع البروتين وترسيبه. والكمية المثلى للمذيب العضوى لكى يرسب بروتين ما تختلف بين ٥ ٦٠% وتتم التجزئة بالمذيبات عادة عند درجة حرارة الصفر أو أقل لكى تمنع تحلل البروتين الحادث بسبب زيادة الحرارة والتى تحدث عند خلط الماء مع المذيبات العضوية.

د دنترة البروتينات الملوثة

العديد من البروتينات يتم دنترها وترسيبها من المحلول عندما تسخن لدرجة أعلى من درجة معينة أو بواسطة ضبط الـ pH للمحلول عند قيم حامضية أو قاعدية عالية. والبروتينات الثابتة عند الحرارة العالية لو عند أقصى قيم الـ pH يمكن فصلها بسهولة بهذا التكنيك، لأن العديد من البروتينات الملوثة يمكن ترسيبها بينما البروتين المطلوب يظل فى المحلول.

التطبيقات

كل التقنيات السابقة تستخدم عادة فى تجزئة البروتينات ويوضح الجدول رقم (٣٣) الذوبان المتباين لبروتينات العضلة المختارة فى محلول $(NH_4)_2SO_4$ والأسيتون ودرجة حرارة ثابتة عند ٥٥ْم.

جدول رقم (٣٣): الظروف المناسبة لفصل بروتينات العضلات القابلة للذوبان

	PRECIPITATION RANGE		
Enzyme	*(NH4)2SO4 Ph 5.5, 10°C (Percent Saturation)*	*Acetone pH 6.5, -5°C (Percent vol/vol)*	*Stability pH 5.5, 55°C*
Phosphorylase	30-40	18-30	U
Pyruvate kinase	55 65	25-40	S
Aldolase	45-65	30-40	S
Lactate dehydrogenase	50 60	25-35	S
Enolase	60-75	35-45	U
Creatine kinase	60-60	35-45	U
Phosphoglycerate kinase	60-75	45-60	S
Myoglobin	70-90	45-60	U

ومن أحسن الأمثلة للاستعمال التجارى لدرجات الذوبان المختلفة لفصل البروتينات فى إنتاج مركزات البروتين. ويمكن تحضير مركز بروتين الصويا مـن رقائـق فـول الصويا المنزوعة الدهن أو الدقيق باستخدام طرق عديدة. ويمكـن ترسـيب بـروتينات الصويا من المكونات الأخرى الذائبة الموجودة بالـرقائق أو الدقـيق باستخدام ٦٠ ٨٠% محلول كحول مائى أو بواسطة الترسـيب عـند نقطـة التعادل الكهربى عند pH ٤,٥ (وهى نقطة التعادل الكهربى للعديد من بروتينات الصويا) أو بواسطة الدنترة بحرارة رطبة. وهذه الطرق استخدمت لإنتاج مركزات تحتوى على أكثر من ٦٠% من البروتينات. اثنان أو ثلاثة من طرق الفصل يمكن أن تستخدم معا فى تتابع لإنتاج البروتين المعزول لفول الصويا والذى يحتوى على أكثر من ٩٠% بروتين.

٢- الفصل بالادمصاص Separation by Adsorption

تعـرف كروماتوجـرافيا الادمصـاص بأنهـا عملية فصل المكونات بالادمصـاص إلـى أو فك الادمصاص على سطح الدعامة الصلبة Solid support بواسـطة مـذيب الإزاحـة. ويعتمد الفصل على القابلية المختلفة للبروتين بالنسبة للمادة المسببة للفصل أو لمحلول الإزاحة المنظم eluting buffer ويعتبر كل من الـ affinity chromatography، كروماتوجرافيا التـبادل الأيونـى نوعا من كروماتجرافيا الادمصاص Ion exchange Adsorption chromatography التى سوف يتم تناولها بالشرح فيما بعد.

الطرق

أ كروماتوجـرافيا التـبادل الأيونـى Ionn Exchange chromatography

تعـرف كروماتوجرافيا التبادل الأيونى بأنها الادمصاص العكسى بين الجـزيئات المشـحونة والأيونات فى المحلول وشبكة مشحونة من الدعامة الصلبة.

ويعتبر الـ Ion exchange chromataphy هو الأكثر شيوعا فى الاسـتعمال لفصـل البروتين وينتج عنها تنقية تعادل ثمانية أضعاف تقريبا.

والشبكة Matrix الموجبة الشحنة تسمى anion exchanger لأنها ترتبط الأيـونات أو الجزيئات سالبة الشحنة فى المحلول. وتسمى الشبكة matrix السـالبة الشحنة Cation exchanger لأنها ترتبط الأيونات أو الجزيئات الموجـبة الشـحنة. والمـبادلات Exchangers الأكثـر اسـتعمالا لتنقية البـروتينات عـبارة عن anionic diethylamino ethyl drivatized supports ثـم يتـبعها Carboxylmethyl and phosphor cation exchanger والبـروتين المطلـوب فصـله يتم ادمصاصه فى البداية إلى المـبادل الأيونـى تحت buffer coditions (قوة أيونية، pH) تزيد من قابلية البروتين للـ mateix.

والبروتينات الملوثة والتى تحمل شحنات مختلفة تمر من خلال المبادل دون أن يحـدث لهـا ادمصاص. والبروتينات المرتبطة بالمبادل يحدث لها إزاحـة اختيارية من على العمود بتغيير القوة الأيونية أو الـ pH بالتدريج لمحلول الإزاحة حيث يؤدى تغيير تركيب محلول الإزاحة إلى تغير شحنات البروتينات كما أن قابليتها لشبكة المبادلات الأيونية تقل.

ب- Affinity chromatography

هـو نـوع مـن adsorption chromatography يـتم فيه فصل البـروتين فـى شـبكة كروماتوجرافية تحتوى على ligand ترتبط بروابط تسـاهمية مـع الدعامة الصلبة Solid support والـ ligand عبارة عن جـزىء لـه ارتـباط انجذابى عكسى ونوعى وفريد للبروتين وتشمل الـ ligand مثـبطات الإنـزيمات Enzyme substrate، الأجسـام المضادة والعديـد من الصبغات ويمكن الحصول على ligand ثنائية التكافؤ بشرائها تجاريا أو تحضيرها معمليا.

ويمر البروتين من خلال عمود يحتوى على ligand مرتبطة بالدعامة الصلبة تحت ظروف من المحلول المنظم (pH قوة أيونية، حرارة، تركيز بروتينـى) تسـمح بـزيادة ارتباط البروتين مع الـ ligand. والبروتينات الملوثة التى لا ترتبط مع الـ ligand يحدث لها إزاحة. والبروتين المرتبط

يتم فك ادمصاص بإحداث إزاحة elution له من على العمود تحت ظروف تسمح بتقليل قابلية البروتين للارتباط بالـ ligand عن طريق تغيير الـ pH، حرارة، تركيز الأملاح أو الـ ligand فى محلول الإزاحة المنظم.

ويعتبر Affinity chromatography من التقنيات القوية جدا وهو ثانى أكثر الطرق شيوعا فى الاستخدام لتنقية البروتينات. ومتوسط التنقية التى نحصل عليها بالـ affinity chromatography حوالى ١٠٠ ضعف. وهذه التقنية أقوى من Ion exchange , size exclusion وطرق الفصل الأخرى التى تحقق عادة نقاء أقل من ١٢ ضعف. ويحتاج تطوير طرق الـ affinity chomatogaphy لوقت طويل كما أن مواد الفصل تكون عادة مكلفة أكثر من المحاليل أو أوساط الفصل الأخرى.

ج. High performance liquid chromatography

تم تهيئة العديد من الطرق الكهروماتوجرافية للاستخدام مع الـ High performonce liquid chromatography (HPLC) وهذه التقنية أمكن استخدامها فى فصل البروتينات باستحداث مواد مغلفة ذات ثقوب كبيرة والجزيئات الدقيقة (Micropaiticulate) والتى تتحمل الضغوط العالية.

٢- التطبيقات

Ion exchange chromatography يستعمل كثيرا فى فصل البروتينات فى المعمل ويمكن أن يستخدم فى تحديد كمية الأحماض الأمينية فى البروتين Affinity chromatography له استخدامات كثيرة فى التحليل المعملى وقد يستخدم فى التحضير التجارى لمواد تفاعل البروتين بالإمدادات الكيماوية، ولكن لا تستخدم عامة للإنتاج التجارى لمكونات البروتين الغذائى بسبب التكلفة الكبيرة.

Affinity chromatography يستخدم لتقنية العديد من الجليكوبروتينات ويمكن فصل الجليكوبروتينات عن البروتينات الأخرى فى مخلوط مركب باستخدام القابلية الكبيرة للارتباط الكربوهيدرات باللكتينات.

اللاكتينـــات مـــثل الــــ Cancanavalin A هى بروتينات مرتبطة بكـــربوهيدرات لهـــا قـــدرة علـــى الارتباط مع solid support وتستخدم فـــىارتباط جـــزء الكـــربوهيدرات فى الـــ glycoproteins الموجود على العمود (column). بمجرد أن ترتبط الـــ glycoproteins مع العمود يمكن أن يفـــك ادمصاصــــها باســـتخدام eluting buffer يحتوى على زيادة من اللكتـــين وتـــرتبط الــــ glycoproteins باللكتين الحر بالذات ويحدث لها elution من العمود.

٣- الفصل بالحجم

الأوزان الجـــزئية للبروتين تتراوح بين ١٠٠٠٠ إلى أكثر من مليون وبـــذلك يكون الحجم معيارا منطقيا فى تحقيق الفصل. الفصل الحقيقى يحدث على أساس Stokes radius للبروتين، وليس على الوزن الجزيئى.

Stokes radius هو متوسط قطر البروتين فى المحلول ويتحدد بشكل البـــروتين. مـــثال: البروتين الكروى (globular) قد يكون له قطر حقيقى مشـــابه جدا للـــ Stokes radius الخاص به، بينما البروتين الليفى أو شبيه العصـــوبات ذو الـــوزن الجزئى المشابه قد يكون له Stokes radius أكبر بكثيـــر مـــن ذلـــك فى البروتين الكروى. وكنتيجة لهذا، فإن كلا من هذين البروتينين قد ينفصل كما لو كان له وزن جزئى مختلف.

الطرق

أ الديلزة Dialysis

تســـتخدم الديلـــزة فى فصل الجزيئات الموجودة فى المحاليل باستخدام أغشـــية شـــبه مـــنفذة تسمح بمرور الجزيئات الصغيرة ولا تسمح للجزيئات الكبيـــرة بـــذلك. ولإجـــراء الديلزة يوضع البروتين فى أنبوبة الديلزة المقيدة أو المثبتة من أحد طرفيها. أما الطرف الآخر للأنبوبة فيغلق بإحكام. ويوضع الكـــيس (الأنبوبة) فى كمية كبيرة من الماء أو المحلول المنظم (عادة من ٥٠٠ ١٠٠٠ مـــرة أكبر من حجم العينة الموضوعة داخل أنبوبة الديلزة) ثـــم تقلب ببطء فيحدث انتشار للمواد الذائبة ذات الوزن الجزيئى المنخفض

من الكيس بينما ينتشر المحلول المنظم إلى داخل الكيس. وعملية الديلزة بسيطة ولكنها طريقة بطيئة نسبيا. وتحتاج عادة إلى حوالى ١٢ ساعة ولتغير المحلول المنظم مرة واحدة. ويتم تخفيف المحلول البروتيني الموجود فى الكيس أثناء عملية الديلزة نتيجة للاختلافات فى القوى الأسموزية بين المحلول والمحلول المنظم للديلزة.

وتستخدم هذه التقنية لتركيز البروتين بتغطية كيس الديلزة المحتوى على المحلول البروتيني بالبولى اثيلين جليكول. ويقوم البولى أثيلين جيلكول بامتصاص الماء وتركيز المحلول الموجود داخل كيس الديلزة.

ب- الترشيح فائق السرعة Ultrafiltration

الترشيح فائق السرعة عبارة عن تقنية تستخدم غشاء شبه منفذ لفصل المواد الذائبة تبعا لأحجامها تحت ضغط. وهذه الطريقة تشابه الديلزة ولكنها سريعة جدا. والأغشية شبه المنفذة لها القدرة على فصل البروتينات التى لها وزن جزيئى يتراوح ما بين ٥٠٠ ٣٠٠,٠٠٠. الجزيئات التى حجمها أكبر من قدرة فصل الغشاء يتم حجزها وتصبح جزءا من الـ retentate بينما الجزيئات الصغيرة تمرر خلال الأغشية وتصبح جزءا من الراشح. ويمكن استخدام الترشيح فائق السرعة لتركيز المحاليل البروتينية، إزالة الأملاح، تبادل المحاليل المنظمة، تجزئة البروتينات تبعا لأحجامها.

وتوجد أنواع عديدة من أجهزة الترشيح فائق السرعة للاستخدام المعملى أو الاستخدام على نطاق واسع. ويتم ترشيح المحلول البروتيني الموجود داخل الخلية المتحركة بواسطة الغشاء الشبه منفذ تحت ضغط الغازات. ويحجز المحلول البروتين المركز ذا الوزن الجزيئى الأكبر من نفاذية الأغشية داخل الخلية، وقد تم تصميم بعض أجهزة الترشيح فائق السرعة للاستخدام فى الطرد المركزى.

ج Size exclusion chromatography

يسمى أيضا gel permeation chromatography وهو نظام عمودى يمكن أن يستخدم فى فصل البروتينات عن طرق الحجم، حيث يمر المحلول البروتيني خلال عمود يحتوى على دعامة صلب مكونة من كرويات

مســـامية مصنوعة من مادة عديدة البلمرة مترابطة بالعرض مثل الآجاروز أو الدكتـــران. فالجزيئات الأكبر من مسام الكريات تتحرك بسرعة من خلال العمود ويحدث لها إزاحة elution من العمود فى وقت قصير. أما الجزيئات الصـــغيرة فـــتدخل المسام فى الكريات وبذلك تتحرك ببطء شديد من خلال العمـــود. والجـــزيئات المتوسطة الحجم تتداخل جزئيا مع الكريات المسامية ويحدث لها إزاحة على فترات متوسطة. وبالتالى يحدث للجزيئات elution مـــن على العمود فى ترتيب حسب انخفاض حجمها. والكريات ذات الأحجام المخـــتلفة مـــن المســـام والتى تسمح بتجزئة جيدة للبروتينات ذات الأوزان الجزيئية المختلفة متاحة تجاريا.

ويســـتخدم الـــ Size exclusion chromatography فى إزالة الأمـــلاح، تغيير الـــ buffers، تجزئة البروتينات، حساب الأوزان الجزيئية ويمكـــن حســـاب الـــوزن الجزيئـــى باستخدام الـــ Chromalographing للبـــروتين الغيـــر معلـــوم والعديد من البروتينات المعلومة الوزن الجزيئى. والجزيئات القياسية المعلومة الوزن الجزيئى متاحة تجاريا ويمكن استخدامها فى عمل المنحنى القياسى.

وعـــند توقـــيع الـــ elution volume (Ve) لكـــل بروتين مقابل لوغاريتم الوزن الجزيئى نحصل على خط مستقيم.

٣- التطبيقات

تســـتخدم Dialysis and Size exclusion chromatography أساســـا فى المعامل التحليلية فى فصل البروتين يستخدم الـــ dialysis غالبا فى تغيير الـــ Buffer إلى واحد من pH المناسبة والقوة الأيونية قبل الفصل الكهربائـــى لعيـــنة من البروتين. يتم عمل الـــ dialysis عادة بعد ترسيب $(NH_4)\ SO_4$ للبـــروتين لإزالـــة الملح الزائد والجزيئات الأخرى الصغيرة ولإذابة البروتين فى Buffer جديد.

يســـتخدم الـــ ultra filtration فـــى التطبيقات المعملية والتجارية ويســـتخدم غالـــبا فى تحضير تركيزات بروتينية من الشرش التى هى منتج ثانوى من صناعية الجبن.

وفـــى هذه العملية يستخدم غشاء نصف نفاذ فى ultra filtration ذي وزن جزئـــى ١٠٠٠٠ إلـــى ٢٠٠٠٠ للإزالة الجزئية للاكتـــوز والأملاح والماء من الشرش وتركيز البروتينات فى الرتنتات.

٤- الفصل الكهربائى

أ - الفصل الكهربائى Polyacylamide gel

يعـــرف الفصل الكهربائى بأنه هجرة الجزئيات المشحونة فى محلول من خلال وسط كهربائى.

الـــنوع الأكثـــر شـــيوعا للفصـــل الكهربائى للبروتينات هو zonal electrophoresis حـــيث تنفصل البروتينات من خليط مركب إلى Bands (خطـــوط) بالهجـــرة فى Buffer مائى من خلال نسيج شبكى عديد البلمرة Solid (صلد) يسمى الجيل.

الجـــيل المكـــون مـــن polyacrylamide هو النسيج الشبكى الأكثر شـــيوعا بالنسبة للـــ zonal electrophoresis للبروتينات، على الرغم من إمكانية استخدام أنواع أخرى مثل الأجاروز والنشا.

الأنســـجة الشـــبكية (Matrix) يمكـــن أن تتكون فى أنابيب زجاجية أو كطبقات بين سطحين زجاجيين.

الفصـــل يعـــتمد علـــى احـــتكاك البـــروتين من خلال النسيج الشبكى (Matrix) وشحنة جزىء البروتين

والبروتينات تكون سالبة أو موجبة الشحنة اعتمادا على pH المحلول وعلى PI لها. البروتين يكون سالب الشحنة إذا كان pH المحلول فوق درجة PI بينما يكون موجب الشحنة إذا كانت pH المحلول تحت درجة PI له. إن كبـــر الشـــحنة والفـــولت المستخدم سوف يحددان لأى مسافة سوف يتحرك البـــروتين فى وسط كهربى للفصل. كلما ازداد الفولت وقويت درجة الشحنة علـــى البروتين، ازدادت حركته من خلال الوسط الكهربى. الوزن الجزيئى والشـــكل اللذان يحددان قطر Stokes للبروتين أيضا يحددان مسافة الحركة مـــن خـــلال النسيج الشبكى Matrix للجيل تنخفض حركة البروتينات كلما ازداد الاحـــتكاك الجـــزىء بســـبب زيادة قطر Stokes وبذلك البروتينات

الأصـــغر تميل نحو الحركة الأسرع خلال النسيج الشبكى (Matrix) للجيل وبالمثل انخفاض حجم الثقب فى نسيج الجيل سوف يقلل الحركة.

فـــى الفصل الكهربائى الأصلى (Native) أو الغير مدنتر (Non denaturing) تنفصل البروتينات فى صورتها الأصلية معتمدة على الشحنة والحجم والشكل الجزيئى.

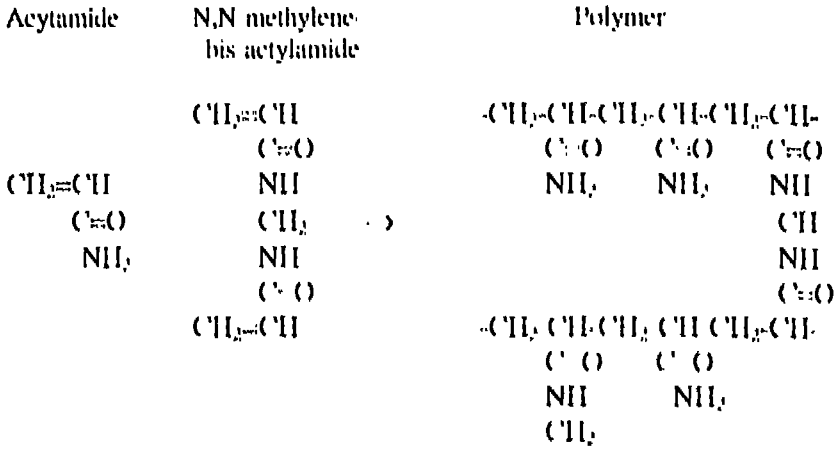
صـــورة أخـــرى للفصل الكهربائى تستخدم غالبا فى فصل البروتينات هـــى الفصـــل الكهربائى التحللى Denaturing ويستخدم الفصل الكهربائى بالبولـــى أكـــريلميد (PAGE) فـــى وجود anionic detergent صوديوم دوديســـيل سلفات (SDS) لفصل الوحدات الصغيرة للبروتينات حسب الحجم حـــيث يتم إذابة البروتينات وتفككها إلى وحدات صغيرة فى buffer يحتوى علـــى SDS وعامـــل مختـــزل. العـــوامل المختزلة مثل الميركابتو إيثانول أو dithiothreital تســـتخدم لاختزال الروابط ثنائية الكبريت خلال وحدات البـــروتين أو بـــين الـــوحدات. وترتبط البروتينات بـــ SDS وتصبح سالبة الشحنة وتنفصل اعتمادا على الحجم فقط.

٢- الطرق

مصـــدر إمداد قوى وجهاز فصل كهربى يحتوى على النسيج الشبكى للجيل المكون من البولى أكريلميد ومستودعين بهاما buffer تكون ضرورية لعلمـــية الفصل. ويوضح الشكل التالى رقائق الجل slobgel ووحدة الفصل الكهربائى. تستخدم وحدة القوى لنصع مجال كهربى عن طريق الإمداد بتيار مسمر، فولت، أو قوى، يقوم الكترود الـــ buffer بالتحكم فى الـــ pH لكى يحتفظ بالشحنة الملائمة على البروتين ويقوم بتوصيل التيار من خلال البولى أكـــريلميد جـــيل. وتشـــمل أنظمة الـــ buffer المعتادة الـــ an anioic tris (hydroxymethyl) amino methon مـــع محلـــول جيل محلل عند pH ٨,٨ والـــ Cationic acetate buffer عند Ph ٤,٣.

النسيج الشبكى للبولى أكريملميد جيل يتكون عن طريق بلمرة الأكريلميد وكمـــية قلـــيلة حوالى ٥% أو أقل من المادة الرابطة المستعرضة (Cross.

Linking)، N,N methylene bisacrylamide في وجود عامل حفاز ترامثيل إيثيلين داى أمين (TEMED) ومصدر للشقوق الحرة Free redials أمنيوم بيرسلفات كما هو موضح فى الشكل التالى. ويمكن صنع أنواع الجيل فى المعمل أو بيعها سابقة التجهيز.



Free radical polymerization reaction or polyacrylamide.

يستخدم النسيج الشبكى للجيل (Matrix) عادة لتحسين درجة فرد البروتينات (Resolution) خلال الخليط المركب، الـ Matrix غير المستمر يتكون من Stacking gel ذي ثقوب كبيرة الحجم (٣ ٤ أكريلميد) و resolving gel ذي ثقوب أصغر فى الحجم. الـ Stacking gel كما يوضح اسمه، يستخدم لتركيز وتجميع البروتينات فى خطوط ضيقة جدا قبل دخولها فى الـ resolving gel، عند pH 6.8 يتكون فرق فى الجهد الكهربى (الفولت) بين أيونات الكلوريد (ذو شحنة سالبة عالية) وأيونات الجليسين (شحنة سالبة قليلة) فىالـ electrode buffer والذى يعمل على Stack تجميع البروتينات فى خطوط ضيقة narrow bands بين الأيونات، الهجرة إلى الـ Resolving gel ذي الـ pH المختلفة تسبب اختلال هذا الفرق فى الفولت وتسمح بفصل البروتينات إلى خطوط Bands منفصلة.

حجـم الثقوب فى الـ resolving gel يتم اختياره على أساس الوزن الجزيئـى للبـروتينات المطلـوبة ويختلف بتغيير تركيز acrylamide فى المحلول. تنفصل البروتينات عادة على resolving gel تحتوى على ٤-١٥٠٠ acrylamide % ويستخدم الأكرالاميد بتركيز ١٥% عادة لفصل البروتينات ذات الـوزن الجزئى الأقل من ٥٠,٠٠٠ دالتون، بينما البروتينات أكثر من ٥٠,٠٠٠ دالتون تنفصل غالبا على جيل يحتوى على acylamide أقل من ٧%. الجيل المتدرج الذى يزداد فيه تركيز الـ acrylamide من القمة إلى قـاع الجيل يستخدم عادة لفصل خليط من البروتينات ذات مدى وزن جزيئى كبير.

لكـى نقوم بالفصل، البروتينات فى الـ Buffer ذي pH مناسبة يتم تحمـيلها علـى قمة الـ Stacking gel ويتم إضافة صبغة البروموفينول الـزرقاء وهى صبغة للتعقب tracting لمحلول البروتين، هذه الصبغة ذات الوزن الجزيئى الصغير تتحرك أمام البروتين وتستخدم لمراقبة تقدم الفصل.

بعد الفصل الكهربى، تتم رؤية الخطوط (Bands) (الحزم البروتينية) علـى الجـيل باستخدام صبغة بروتينية مثل coomassie brilliant blue أو صبغة Ver وتستخدم صبغات الإنزيم الخاصة أو الأجسام المضادة لتحديد بروتين ما.

الحـركة النسبية أو حركة الفصل الكهربى (Rm) لكل band بروتين يمكن حسابها كالآتى:

$$Rm = \frac{\text{المسافة التى يتحركها من بداية الـ resolving gel}}{\text{المسافة بين بداية الـ running gel وصبغة التعقب}}$$

الطريقة

تـدرج للـ pH يتكون باستخدام amphoiytes التى هى عبارة عن بوليمـرات صـغيرة (الكتلة الجزيئية حوالى ٥٠٠٠ دالتون) تحتوى على

مجموعات موجبة وسالبة الشحنة ويتكون خليط الـ ampholyte من آلاف من البوليمرات التى توضح مدى قيم الـ pH.

وتضاف الـ amphollytes لمحلول الجيل قبل البلمرة، بعد أن يتكون الجيل وتوصيل التيار ، تهاجر الـ ampholytes لإحداث تدرج الـ pH، وتهاجر الـ ampholytes سالبة الشحنة ناحية الأنود بينما تهاجر الـ ampholytes موجبة الشحنة ناحية الكاثود.

مخلوط الـ ampholytes متاح وهو يغطى مدى ضيق من pH (٢ ٣ وحدات) أو مدى واسع (٣ ١٠ pH) ويجب أن يتم اختياره للاستخدام على أساس خواص البروتينات المفصولة.

التطبيقات

البؤرة المتعادلة الكهربية هي الطريقة المثلى لتحديد نقطة التعادل الكهربى لبروتين ما، وهى طريقة مثالية لتحديد نقاء البروتين المحضر وعلى سبيل المثال فإن الـ ISO zymes للبولى فينول اكسيديز. والبروتينات النباتية والحيوانية يتم التعرف عليها باستخدام هذه الطريقة وتستخدم الـ Isoelectic focusing للتفرقة ما بين أصناف الأسماك القريبة الصلة ببعضها اعتمادا على نماذج البروتين protein patterns.

وطريقة البؤرة المتعادلة الكهربية يمكن أن ترتبط مع الـ SDS PAGE إنتاج فصل كهربى ثنائي الأبعاد ذي فائدة كبيرة جدا لفصل مخلوط معقد جدا من البروتينات، وتسمى هذه التقنية بالتحليل الكهربى ثنائي الأبعاد حيث تنفصل البروتينات أولا فى أنبوبة الجيل والبؤرة الكهربية المتعادلة، ثم توضع أنبوبة الجيل المحتوية على البروتينات المفصولة على قمة رقائق جل SDS PAGE وتفصل البروتينات، وبذلك فإن البروتينات تنفصل أولا على أساس الشحنة ثم بعد ذلك حسب الشكل والحجم. وأكثر من ١٠٠ من البروتينات الموجودة فى المخلوط المركب يمكن تحليلها باستخدام هذه التقنية.

يســتخدم الفصل الكهربى لتحديد تركيب البروتين لمنتج غذائى. على ســبيل المــثال، الفــروق فى تركيب البروتين لمركزات بروتيــن الصويا وبروتين الشرش المنتج بواسطة طرق الفصل المختلفة يمكن أن يتم تحديدها. الفصل الكهربى يمكن أن يستخدم أيضا فى تحديد نقاء مستخرج البروتين.

يســتخدم SDA PAGE فــى تقدير تركيب الوحدات الصغيرة من البــروتين وتقديــر الــوزن الجزيئى للوحدات فى حدود خطأ ٥%، مع أن البــروتينات عالــية الشحنة أو الـــ glycoproteins قد تتعرض إلى خطأ أكبر.

الــوزن الجزيئـــى يــتحدد بمقارنـــة Rm لــوحدة البروتين مع Rm للبروتينات القياسية ذات الوزن الجزيئى المعروف.

مستحضــرات البروتين القياسية تتوافر تجاريا فى العديد من الأوزان الجــزيئية. ولتحضــير منحنى قياسى، يوضع لوغاريتمات الأوزان الجزيئية القياســية للبروتين فى مقابل قيم Rm المكافئة لهم. الوزن الجزيئى للبروتين غير المعلوم يتم تحديده من قيمة Rm له باستخدام المنحنى القياسى.

ب- بؤرة التعادل الكهربى Iso electric focusing

هــو تعــديل فى الفصل الكهربى، تنفصل فيه البروتينات بالشحنة فى وســط كهربى على نسيج شبكى للجيل matrix بحيث يحدث تدرج الـــ pH باســتخدام ampholytes تتركز البروتينات أو تهاجر إلى مكان فى التدرج عنده تساوى الـــ pH الـــ PI للبروتين.

وهــذا التحلــيل Resolution يمكن استخدامه لفصل البروتينات ذات Pis التى تختلف بأقل من ٠,٠٢ من وحدة الـــ pH.

ج الفصل الكهربى الشعرى Capillary Electrophoresis

وفقــا للقواعد المتشابهة التى تطبق لفصل البروتينات بواسطة كل من طرق الفصل الكهربى الـــ Capillary والتقليدية فإنه يمكن فصل البروتينات على أساس الشحنة أو الحجم فى وسط كهربى.

الفــرق الأولى بين الفصل الكهربى Capillary وبين الفصل الكهربى التقليدى هو أن الـــ Capillary tubing (الأنابيب الشعرية) تستخدم مكان صــب الجــيل البولــى أكــريلميد فى الأنابيب أو الرقائق، يؤثر تدفق الـــ electroosmotic خلال الأنابيب الشعرية على فصل البروتينات فى الفصل الكهربائى بالأنابيب الشعرية.

٢- الطريقة

يـــتكون نظام الفصل الكهربائى بالخاصية الشعرية من عمود شعرى، مصدر قوة كهربية، كاشف، ومستودعين للـــ buffer تدخل العينة فى ناحية المــدخل للأنبوبة الشعرية ويسد مدخل مستودع الـــ buffer بمحلول العينة واستخدام ضغط قليل أو تيار فولت عبر الأنبوبة الشعرية إلى أن يتم تحميل الحجم المطلوب من العينة داخل العمود.

تـــتكون الأنابـــيب الشعرية من سيليكا متدخلة ذات نصف قطر داخلى يتـــراوح عـــادة ما بين ٢٥ إلى ١٠٠ ميكرومتر، ويختلف طول العمود من ســـنتيمترات قلـــيلة إلى ١٠٠ سنتيمتر. الوسط الكهربى العالى (١٠٠-٥٠٠ فولت / سم) يمكن أن يستخدم حيث إن الأعمدة الضيقة تتشتت حراريا بكفاءة عالية مما يسمح بصغر وقت التطبيق حوالى ١٠ ٣٠ دقيقة.

عـــند نهايـــة الـــ run، (التطبيق) لا يمكن رؤية bands للبروتين بالصـــبغة كما فى الفصل الكهربى التقليدى ولكن، تجمعات البروتين نحددها علـــى العمود وهى تهاجر الكاشف، الكواشف تتشابه مع تلك المستخدمة فى high performance liquid chromatography الكواشـــف المـــرئية بالأشـــعة قـــبل البنفسجية هى الأكثر شيوعا، مع أن الفلورنيسية والموصلة متاحة، كواشف الفلوريسنس والتوصيل الكهربى متاحة، البيانات المأخوذة من الفصـــل الكهربى بالأنابيب الشعرية تشبه الكروماتوجرام المأخوذ من الغاز أو الكروماتوجراف بالـــ formance liquid.

التطبيقات

الفصــــل الكهربائى الشعرى هو تكنيك ناشئ مازال يستخدم أساسا فى معامــــل التحلـــيل ولـــيس فى عمليات ضبط الجودة البروتينية، هناك ثلاثة اخـــتلافات للفصـــل الكهربائـــى الشعرى تستخدم عادة فى فصل البروتينات Capilary zone electrophoresis أو free solution electrophoresis يشبه جدا الفصل الكهربى بجيل البولى أكريلميد فيما عدا أن البـــروتينات تنفصل فى المحلول الحر بداخل الأنابيب الشعرية المملوءة بالـــ Buffer مع pH المطلوب.

ويـــتم مـــع الانتشـــار من خلال ضيق نصف القطر للأنابيب الشعرية بحـــيث إن نســـيج الجـــيل لســـنا بحاجـــة إليه فى الـــ capillary zone electrophoresis يؤثـــر تدفـــق الــــ electro osmotic علـــى فصـــل البروتينات خلال الأنابيب الشعرية أيضا.

الســـيليكا الممـــزوجة (المنصهرة) سالبة الشحنة فى جدار الأنابيب الشـــعرية [تحتوى على مجموعات سيلانول Sio] تجتذب الأيونات موجبة الشحنة (كاتيونات) من الـــ Buffer لتكون طبقة أيونية مزدوجة عند الحد الفاصل بين جدار عمود الأنبوبة الشعرية والـــ Buffer.

وعـــند إمـــرار التـــيار الكهربـــى تنجذب الكاتيونات المكونة للطبقة الممـــزوجة ناحـــية الكاثـــود وتجذب الجزيئات الأخرى (بغض النظر عن الشـــحنة) فـــى نفـــس الاتجاه. وبذلك فإنه فى طريقة الـــ free solution capillary electrophoresis يمكن فصل الكاتيونات والأنيونا والجزيئات غير المشحونة فى تجربة واحدة.

ويمكـــن الـــتحكم فـــى تدفق الـــ electro osmotic بتغيير الـــ pH أو القـــوة الأيونـــية للـــ Buffer لتغيير الشحنة على جدار الأنابيب الشعرية وتغير معدل هجرة البروتين.

تســـتخدم طـــريقة capillary zone electrophoresis فـــى تجزئة بروتينات اللبن، بروتينات الصويا وبروتينات الحبوب.

وتستخدم طريقة SDS capillary gel electrophoresis فى فصل البـــروتينات حســب الحجــم لتحديد الكتل الجزيئية. فى هذا التكنيك تتحلل البـــروتينات وتـــتفكك فى وجود SDS و عامل مختزل ثم تحدث التجزئة فى الأنابــيب الشــعرية المملوءة بالبولى أكريلميد جيل ذات حجم ثقوب معين، تبادلـــيـــا، تضـــاف البوليميــرات الخطية مثل ميثيل السيليلوز، الدكستران أو بولـــى إثيلين جليكول للـــ Buffer من خلال الأنابيب الشعرية فى تكنيك يسمى dynamic sieving capillary electrophoresis.

هذه البوليمرات المعقدة تعمل مثل الثقوب فى جيل البولى أكريلميد لكى تبطئ من هجرة البروتينات الأكبر وتسمح بالفصل حسب الحجم.

البروتينات يمكن أيضا أن تنفصل على أساس نقاط التعـــادل الكهربية فـــى تكنـــيك يســـمى capillary isoelectic focusing Ampholytes تستخدم لتكوين تدرج pH من خلال الأنبوبة الشعرية. لا نحتاج هذا إلى gel matrix. فـــى هـــذا التكنيك، يقلل التدفق الـــ electro osmotic بواسطة تغلفـــة جدار الأنبوبة الشعرية بواسطة إضافات الـــ Buffer لمنع التأثيرات الغير مرغوبة بسبب شحنة السطح.

٥- تحليل الأحماض الأمينية

وتعمـــل تحليل الأحماض الأمينية فى التحديد الكمى لتركيب الأحماض الأمينية فى بروتين ما. عينة البروتين يتم تحليلها فى الماء (hydrolyzed) لتحرير الأحماض الأمينية. ثم يتم فصل الأحماض الأمينية باستخدام الطرق الكروماتوجرافية ويتم تقدير كميتها.

ثلاث طرق يمكن استخدامها للفصل هى:

- Ion exchange chromatography.
- Reversed phase liquid chromatography.
- Gas liquid chromatogaphy.

الطرق

بصفة عامة يتم تحليل عينة البروتين بالغليان الثابت فى محلول حمض يـد كل ٤٦ لمدة ٢٤ ساعة بالغليان الثابت 6NHCI لمدة ٢٤ ساعة لتحرير الأحماض الأمينية قبل تحليلها كروماتوجرافيا.

التحديد الدقيق لكمية بعض الأحماض الأمينية يكون صعبا لأنها تتفاعل بطرق مختلفة أثناء التحلل المائى. وعلى هذا يجب استخدام طرق تحلل مائى خاصة لمنع حدوث الأخطاء. التربتوفان يتكسر تماما بالتحلل الحمضى.

الميثيونين، السيستتين والثريونين والسيرين تتكسر بانتظام أثناء التحلل وبذلك سوف تؤثر درجة التحلل على النتائج.

الأسـبارجنين والجلوتامين تتحول كميا إلى حمض الأسبارتك وحمض الجلوتاميك على الترتيب ولا يمكن قياسها. الأيزوليوسين والفالين تتحلل فى الماء أكثر بطئا فى 6NHcl من الأحماض الأمينية الأخرى بينما لتيروزوين يتم أكسدته.

وبصفة عامة فإن فقد الثريونين والسيرين يمكن تقديره بالتحلل المائى للعينـات لـثلاث مـدد من الوقت (٢٤، ٤٧، ٧٢ ساعة) متبوعا بتحليل الحمـض الأمينــى. الـتعويض عـن تكسير الحمض الأمينى يمكن أن يتم بالحساب إلى وقت الصفر مفترضين I st order kinetics.

الفالـين والأيوليوسـين يـتم تقديـرهما غالـبا مـن الـ ٧٢ ساعة hydrolysate السيتتين والسيستين يمكن أن يتحولا إلى المركب الأكثر ثباتا (حمـض السيسـتيك) بواسـطة التحلل فى حمض بيرفورميك ثم التحلل فى حمض يد كل ع ويلى ذلك التحليل الكروماتوجرافى.

التـربتوفان يمكـن أن يفصـل بالكروماتوجرافـى بعد التحلل المائى الأساسى أو يتحلل باستخدام طريقة أخرى غير تحليل الأحماض الأمينية.

فـى الطريقة الأصلية المستحدثة بواسطة Moore وزملائه وروجعت فـيما بعـد بواسـطة Stein وآخرين، ثم فصل الأحماض الأمينية باستخدام

كروماتوجرافيا التبادل الأيونى كروماتوجرافى باستخدام الإزاحة والتدريجية باستخدام buffers متزايدة الـــ pH والقوة الأيونية.

والأحمـــاض الأمينية المزاحة (eluting) من العمود يتم تقدير كميتها بالـــتفاعل مع النهيدرين لإنتاج منتج ملون يقاس بالتحليل الطيفى الضوئى. هذه الطريقة يتم جعلها أتوماتيكية فى أواخر السبعينيات وهى الأساس للعديد من نظم تحليل الأحماض الأمينية المستخدمة حاليا. وتم تعديله للاستخدام مع high performance liquid chromatographs.

فى الثمانينيات. هذا التعديل تم تحقيقه لأن Ion exchange resins الجديدة تم استحداثها بحيث تتحمل الضغوط العالية، وأقصى درجات الـــ pH والقوة الأيونية والحرارة.

الطـــرق الأخـــرى استحدثت أيضا فى الثمانينيات باستخدام HPLC و reversed phase column.

الأحمـــاض الأمينـــية المـــتحللة مائـــيا يـــتم استخلاصها قبل تحليلها كروماتوجـــرافيا بالفينـــيل ثيوكاربامـــيل أو مـــركب اخـــر، ثم فصله بالـــ reversed phase HPLC وتم تقدير كميته بالتحليل الطيفى بالأشعة فوق البنفســـجية. الطـــرق التـــى يستخدم فيها الـــ HPLC يمكن أن تقدر كميات بالبـــيكو مول من الأحماض الأمينية. التجارب الكروماتوجرافية تأخذ حوالى ٣٠ دقيقة أو اقل.

كمية كل حمض أمينى فى الـــ peak عادة ما يتم تحديدها عن طريق عمل Spiking للعينة مع كمية معروفة من مادة عيارية داخلية.

المادة العيارية الداخلية عادة تكون حمضاً أمينياً مثل نورليوسين بحيث لا تـــوجد عـــادة فى المنتجات الغذائية وعادة ما يعبر عن النتائج بالمول فى المائـــة، هـــذه الكمية يتم حسابها بقسمة الكتلة لكل حمض أمينى (محدد من الكروماتوجـــرام) على وزنه الجزيئى، تجميع القيم لكل الأحماض الأمينية، قسمة كل منهم على القيمة الكلية للمولات وضرب النتيجة فى مائة.

التطبيقات

تحليل الأحماض الأمينية يستخدم فى تحديد القيمة الغذائية لبروتين ما وتحديد أو التعرف على البروتين المعزول.

تحليل الحمض الأمينى يمدنا بالمعلومات لحساب الوزن الجزيئى لبروتين ما وأيضا حجمه الجزيئى الخاص.

البروتينات المستخدمة فى أغذية الحيوانات، التركيبات الخاصة بالأطفال، الوجبات الغذائية الخاصة يتم تحليلها عادة بالنسبة لنوعية البروتين للتأكد من أن كميات الأحماض الأمينية الأساسية كافية.

فحص البروتين بالميكروسكوب

Protein visualization by Microscopy

بينما يعد تقدير كمية البروتينات أو فصلها هدفا فى العديد من الحالات وقد يكون من الضرورى فى حالات أخرى أن نرى مكان جزيئات البروتين فى الأغذية أو مكونات الغذاء، ويستخدم الميكروسكوب الفلوريسنسى مع صبغات خاصة للبروتينات فى هذا الغرض.

فعلى سبيل المثال، صبغة حمض ١ أنيلنيو ٨- نفثالين سلفونيك (ANS) تشع إشعاعا فلوريسنسياً فقط عندما ترتبط بالبروتين. يتفاعل محلول الصبغة المائى مع العينة المحتوية على بروتين ويرى المستحضر تحت الميكروسكوب الفلوريسينسى، الصبغات الأخرى المستخدمة لرؤية البروتينات هى كوماسى بريليانت الزرقاء، وفاست الخضراء. تتأثر شدة الصبغة بالفروق التركيبية فى البروتين والتغيرات التركيبية الناتجة عن التصنيع. مثال على التطبيقات تتضمن رؤية توزيع البروتينات فى منتجات الحبوب، الجبن والشيوكولاتة.

اختبارات جودة البروتينات

مقدمـــــة

الاختبارات التي تجرى لتقدير جودة البروتين تهدف إلى معرفة القيمة الغذائـــية لبـــروتينات الأغذيـــة والقـــدر المتاح منها لنمو الخلايا وسلامتها. وتستخدم هذه الاختبارات كمقياس مباشر للأحماض الأمينية الأساسية وكيف يـــتم هضم وامتصاص البروتين والاستفادة منه فى النمو. وتقسم الأحماض الأمينية الى:

- أحماض أمينية أساسية Essential amino acid.
- أحماض أمينية غير أساسية non Essential amino acid.

وذلـــك بـــناء علـــى الاحتياجات الحيوية اللازمة لتخليـــق البروتين، البـــروتين الذى يحتوى على نسبة عالية من الأحماض الأمينية الأساسية له قـــيمة حـــيوية مـــرتفعة والأحمـــاض الأمينـــية الأساسية تشمل هستدين أيزوليوســـين ليوســـين ليســـين ميثونين فينيل الالانين فالين ثربونين تربتوفان، أما الأحماض الغير أساسية تشمل الالانين اسبارجين حمـــض اســـبارتيـــك جلوتامين وحمض جلوتاميك وجليسين وبرولين وســـرين، بالإضـــافة إلى ذلك فإن الأحماض الأمينية التالية قد تكون أساسية تحـــت ظـــروف معيـــنة مثل taurine للرضع و cysticne للأطفال الذين يعانـــون من مشاكل فى التمثل الغذائى والتليف الكبدى و tyrosin للأطفال المبتسرين والذين يعانون سوء تغذية. ornithine , ctrulline , Argnine فى دورة اليوريا.

وتســـتخدم كل من التحليل البيولوجى (داخل الكائن الحى) أو التحليل الكـــيماوى أو البيوكـــيماوى (خارج الجسم الحى) للتنبؤ بجودة البروتين، التقديـــرات الطبيعـــية للقـــباس تستخدم نمو الحيوان أو التوازن النيتروجينى والتنـــبؤ بكمـــية تمثيل البروتين ومدى استفادة الجسم به وفى بعض الحالات تستخدم الاختبارات الميكروبيولوجية لتتنبأ بجودة البروتين. يستخدم الفحص فـــي المعمل أكثر من الفحص الطبيعى لأنه أسرع وأقل تكلفة. يشمل الفحص

المعملـــى دراسة النظام الإنزيمى للحيوان الثدى. تقارن الاختبارات المعملية الأخرى ما بين الأحماض الأمينية الداخلة فى تركيب البروتين ومقارنتها مع واحد أو أكثر من البروتينات القياسية.

الاعتبارات العامة

١ - تقدير الاحتياجات البروتينية

حددت احتياجات جسم الإنسان من البروتين والمستويات الموصى بها طبقا لمنظمة الصحة العالمية والفاو (FAO / WHO) و (FNB/NAS).

أوصت (FAO / WHO) عام ١٩٨٥ بأن تكون كمية البروتين التى يتـــناولها الشـــخص البالغ ٠,٧٥ جم من البروتين / ١ كجم من وزن الجسم يومـــيا أو ٥٢,٥ جم بروتين لشخص بالغ وزنه ٧٥ كجم والكميات الموصى بهـــا فـــى الأطفال والرضع أعلى، والكميات الموصى بها للأطفال تنخفض تدريجـــيا كلمـــا اقتـــرب الطفـــل من حالة البلوغ. وتستخدم اختبارات جودة البروتين لتوضيح كيف يفى الغذاء بالاحتياجات البروتينية.

ويوضـــح الجـــدول رقـــم (٣٤) الاحتياجات المقترحة من الأحماض الأمينية للإنسان ومقارنتها بالكازين.

جدول رقم (٣٤): الاحتياجات المقترحة من الأحماض الأمينية للإنسان ومقارنتها بالكازين

	SUGGESTED PATTERN OF REQUIREMENT (mg/g crude protein)					
Amino acid	***Infant mean (range)***	***Preschool Child (2-5 years)***	***School age child (10-12 years)***	***Adult***	***Laboratory Rat***	***Reported composition casein***
Histidine	26(18-36)	(19)	(19)	16	25	32
Isoleucine	46(41-53)	28	28	13	42	54
Leucine	93(83-107)	66	44	19	62	95
Lysine	66(53-76)	58	44	16	58	85
Methionine + Cystine	42(29-60)	25	22	17	50	35
Phenylalanine + lyrosine	72(68-118)	63	22	19	66	111
Threonine	43(40-45)	34	28	9	42	42
Tryptophan	17(16-17)	11	(9)	5	12.5	14
Valine	55(44-77)	35	25	13	50	63
Total						
Including histidine	460(408-588)	339	241	127	407.5	499
Minus histidine	434(390-552)	320	222	111	382.5	499

٢- التأثيرات القياسية واختبارات جودة البروتين

اختـــبار وإجـــازة طرق قياس جودة البروتين مهم من الناحية الصحية وحمايـــة المستهلك من الغش التجارى. والدراسات الإكلينيكية التى تتم على الإنســـان والتـــى تقـــيس النمو والمؤشرات البيولوجية الأخرى مثل الميزان النيتروجينى تقدم أكثر التقديرات دقة لجودة البروتين. ومع ذلك فالاختبارات الإكلينيكـــية عـــادة ما تكون غير ملائمة وغير عملية لاختبارت قياس جودة البـــروتين الروتينية. وتعتبر طريقة نسبة كفاءة البروتين protein (PER) efficeincy ratoi واحد، من طرق تقدير جودة البروتين الواسعة الانتشار وقد ظهرت عام ١٩١٩، وتقيـــس طريقـــة PER قـــدرة البروتين المختبر (مقارنـــة بالكـــازين) علـــى تدعيم النمو وسرعته. وقد استخدمت بصورة واســـعة فـــى التنبؤ بجودة البروتين الذى يتناوله الإنســـان، وهى حتى الآن الطـــريقة التى اعتمدتها الـــ FDA فى مجال التغذية. وبوجه عام فإننا نغالى فى تقدير قيم الـــ PER لبعض البروتينات وخاصة البروتين النباتى.

وتحـــتاج طـــريقة الـــ PER لوقت طويل لإجرائها، وقد انتقدت لأنها لا تأخـــذ فى الاعتبار البروتين المستخدم فى المحافظة على الخلايا. وخلال الفترة من عام ١٩٨١ ١٩٨٩ قامت لجنة دستور الأغذية باتخاذ العديد من الإجـــراءات لتقيـــيم جودة البروتينات النباتية فى تغذية الإنسان. وهذا التقييم أدى فى النهاية لتوصية أصدرها مؤتمر ضم خبراء من كل من الـــ FDA , WHO باعتبار طريقة: Protein digestability corrected amino acid score (CPDCAAS) طـــريقة رسمية لتقدير جودة البروتين روتينيا للإنسان بدلا من طريقة الـــ PER. وتحتاج طريقة الـــ PDCAAS لقياس دقيق لتركيب الأحماض الأمينية وتحليل قابلية البروتين للهضم بعناية.

وفـــىعام ١٩٩٩ اقتـــرحت الـــ FDA استمرار استخدام الـــ PER لفحـــص جـــودة البـــروتين كجزء من الـــ Nutritional labeling and education Act (NLEA).

ومع ذلك زاد الجدل من قبل العديد من الهيئات نحو هذا الموضوع مما جعـــل الـــ FDA عـــام ١٩٩١ تعـــيد النظـــر فـــى اقتـــراحها وتستخدم

الـــ PDCAAS كطريقة دقيقة لتقدير القيمة الهضمية بخلاف تلك المطلوبة للأطفال.

الطرق

١- أنظمة النمو والميزان النيتروجيني

تعـــتمد اختبارات قياس جودة البروتين بصورة رئيسية على دراسات تغذية الفئران وقياس التوازن النيتروجيني أو النمو، وعن طريق قياس النمو يســـتخدم اختبار PER بصورة موسعة ولقد تم تعديل طريقة PER لتعطى مـــا يطلـــق علـــيه NET PROTEIN RATIO (NPR) ولتقدير التوازن النيتروجينـــي يستخدم كل من القيم الحيوية (BV) و NPU ويعتبر NPU تعديلاً لطريقة BV.

نسبة كفاءة البروتين Protein efficiency ratio

يعتبـــر الــــ PER تقديـــر بيولوجـــي أقرته AOAC لتقدير جودة البروتين فى الأغذية المختلفة أو مكونات الغذاء.

الأساس العلمى

تعتمد طريقة PER أساسا على الزيادة التى تحدث فى وزن مجموعة مـــن ذكـــور الفئـــران المفطومة والتى تم تغذيتها على البروتين المختبر، ثم مقارنـــتها مـــع مجمـــوعة أخرى تتغذى على وجبة يعتبر الكازين مصدراً للبـــروتين لهـــا. كلما كانت القيمة الغذائية للبروتين المختبر مرتفعة، حدثت زيـــادة سريعة فى نمو الحيوانات، يتم تقدير جودة البروتين المختبر بالنسبة للكـــازين وبوجه عام فإن البروتين ذا PER أكبر من ٢ يكون عالى الجودة و ١,٥ ٢ يكون متوسط الجودة، أقل من ١,٥ منخفض الجودة.

وحـــيث إن PER اختـــبار يـــتم علـــى الكائن الحى فإنه تشمل قابلية البـــروتين للهضـــم والدرجة التى توجد عليها الأحماض الأمينية فى صورة مـــتاحة بيولوجيا، ومع ذلك فإنه يصعب من اختبار PER تحديد الدور الذى يؤثر كل عامل من هذه العوامل على جودة البروتين.

خطوات التجربة

تستخدم مجموعة من ذكور الفئران المفطومة من نفس النوع (عمرها من ٢١ ٢٨ يوما) ويتم تغذيتها على وجبة غذائية تحتوى على ١٠% بروتين، ويجب ألا يقل عدد الفئران فى كل مجموعة عن ١٠، مجموعة واحدة يتم تغذيتها على الوجبة التى تحتوى على الكازين (المقارنة) أما باقي المجموعات تتغذى على البروتين المختبر. يمكن اختبار أكثر من بروتين في نفس التجربة أو عن طريق مجموعات متعددة، ويجب أن يحتوى اى بروتين مختبر على ١,٨% علي الأقل نيتروجين إذا ما أريد إدخاله ضمن الوجبة محل الاختبار، وذلك بالمستوى المضبوط بالوزن، وملاحظة أن الوجبات يجب أن تحتوى على نفس القدر من السعرات الحرارية، وتحتوى على الكربوهيدرات فى صورة نشا الذرة والليبيدات فى صورة زيت بذرة القطن والألياف الخام فى صورة سليلوز ومخاليط متزنة من الفيتامينات والأملاح، ولكن يؤخذ فى الاعتبار الفرق فى المحتوى البروتينى ما بين المواد المختلفة التى يتم اختبارها فإنه يجب ضبط كمية نشا الذرة فى الوجبة الغذائية. توضع الفئران فى أقفاص فردية ويتم إمدادها بالكمية المحسوبة من الوجبات الغذائية والماء.

يسجل وزن كل حيوان فى بداية التجربة مع قياس كل من وزن الجسم والغذاء المتناول على فترات منتظمة (على الأقل كل ٧ أيام) أثناء التجربة والتى تستمر لمدة ٢٨ يوما تحسب PER على أنه مقدار زيادة فى الوزن / جرام من البروتين (% نتروجين × ٦,٢٥) الذى يتم تغذية الفئران عليه ويتم حساب PER باستخدام متوسط الزيادة فى الوزن ومتوسط الكمية المتناولة من البروتين وكل مجموعة فى اليوم الثامن والعشرين.

$$PER = \frac{\text{الزيادة في الوزن في المجموعة المختبرة (بالجرام)}}{\text{الكمية التي تم استهلاكها من البروتين (بالجرام)}} \quad \ldots (1)$$

قيمة PER المعدلة تستخدم لمقارنة جودة البروتين المختبر إلى الكازين القياسي، PER للكازين فى حدود ٢,٥ ونتائج البروتين المختبر تكون طبيعية لقيم الكازين فى محاولة تقليل الاختلافات المعملية ويلاحظ:

$$\text{PER المعدلة} = \frac{\text{PER للبروتين المختبر}}{\text{PER للكازين المقارن}}$$

التطبيقات

يمكن استخدام PER فى التميز بين البروتينات على الرغم من أن الاختبار يميل إلى إعطاء تقدير أكبر من الحقيقى لبعض البروتينات ذات المصدر الحيوانى، وإعطاء تقدير أقل من الحقيقى لبعض البروتينات ذات المصدر النباتى. وجود البروتينات النباتية يكون أقل من الحقيقى بسبب الاحتياج الأكبر نسبيا لبعض الأحماض الأمينية الأساسية فى الوجبة الغذائية عندما يتم تغذية الفئران المفطومة (معدل النمو بها أسرع) مقارنة بالإنسان، من وجهة نظر الصحة العامة فإن التقديرات الأقل من الحقيقة PER ليست بالضرورة ذات أثر ضار، ومع ذلك فإنه يوجد ميل نحو تسجيل تقديرات أعلى من الحقيقة فيما يختص بالاحتياجات التغذوية من الهستدين أيزوليوسين ثريونين فالين والأحماض الأمينية المحتوية على الكبريت (سستين ميثونين) وأيضا فإن الكازين يكون أقل من صورة البروتين المقارن ويكون أقل مقدار ١٥ ٣٠% وذلك لمقابلة احتياج الفئران من الأحماض الأمينية الكبريتية. إن العيب الرئيسى فى طريقة PER هو أنها تختبر النمو وهى بذلك لا تأخذ فى الاعتبار البروتين المستخدم فى المحافظة على الخلايا. إن البروتين الذى لا يساعد على النمو له PER تساوى صفر على الرغم من أن أخذه يكون مناسب للوفاء بالاحتياجات البروتينية للبالغين ومثل هذه المشاكل تؤدى إلى التوصية باستبدال PER بطرق أخرى.

٢- نسبة البروتين الصافى Net protein ratio

طريقة نسبة البروتين الصافى NPR ما هى إلا فحص للنمو الحيوانى والتنبؤ بقيم البروتين المختبر اللازمة للمحافظة على الخلايا، فالبروتين قد يحتوى على كمية كافية من الأحماض الأمينية الأساسية للمحافظة على الخلايا على الرغم من أن النسبة ليست مرتفعة بالدرجة الكافية لتدعيم النمو.

تجرى غالبا طريقة NPR مع PER فى ان واحد. إحدى مجاميع الحيوانات يتم تغذيتها على غذاء خال من البروتين ومجموعة أخرى يتم تغذيتها على الغذاء محل الاختبار.

متوسط الفقد الحادث فى وزن الحيوانات التى تم تغذيتها على الغذاء الخالى من البروتين سجلت بعد ١٠، ١٤ يوماً يتم حساب قيمة NPR على أساس الاحتياجات من البروتين اللازمة للمحافظة على الخلايا، وهو يمثل الزيادة فى وزن الحيوانات التى غذيت على الغذاء المختبر بإضافة متوسط الفقد فى وزن الحيوانات التى غذيت على وجبة خالية من البروتين.

$$NPR = \frac{\text{زيادة فى وزن الحيوانات المختبرة (جم) + الفقد فى وزن الحيوانات التى تغذى على وجبة خالية من البروتين (جم)}}{\text{وزن البروتين الذى استهلكته الحيوانات المختبرة (جم)}}$$

٣- القيم الحيوية والاستفادة من البروتين الصافى

Biological value and Net protein utilization

بعكس طريقة NPR ، PER والتى تقيس النمو فإن القيم الحيوية (BV) و NPU يتم تقديرها من خلال الميزان النيتروجينى (N). ويمكن حساب الميزان النيتروجينى بواسطة النيتروجين الذى تتناوله حيوانات التجارب خلال الوجبة الغذائية مطروحا منه احتياجات العمليات الحيوية من النيتروجين الموجود فى البراز.

الميزان النيتروجينى (B) =

النيتروجين المتناول (النيتروجين فى البراز + نيتروجين فى البول)

القيمة الحيوية للبروتين المختبر هى نسبة النيتروجين الممتص واللازم للـــنمو للمحافظة على الخلايا إلى معدلات العلميات الحيوية وفقد الحادث فى النيتروجين.

$$BV = 100\,(\,B \quad BO\,)\,/\,A$$

حيث B : الميزان النيتروجيى

BO: الميزان النيتروجينى فى الحيوانات التى غذيت على وجبة خالية من البروتين

A: النيتروجين الحقيقى الممتص

النيتـــروجين الحقيقى الممتص = النيتروجين المتناول – النيتروجين المفقــود فى براز الحيوانات التى غذيت على بروتين مختبر النيتروجين المفقود فى البراز للحيوانات التى غذيت على وجبة خالية من البروتين).

N المتناول (N فى براز كلى N فى براز بطئ النمو) (N الكلى فى البول N فى بول باعلىء النمو)

القيمة الحيوية = ―――――――――――――――――――――――――――

N المتناول (N الكلى فى البراز N براز بطئ النمو)

NPU هــو نســبة النيتروجين المحتجز داخل الجسم من النيتروجين المتــناول والــذى يتم احتجازه داخل الجسم. ويمكن تحديد قيمة NPU عن طـــريق مقارنـــة المحـــتوى النيتروجينى لجثث مجموعة الحيوانات التي تم تغذيـــتها على وجبة تحتوى البروتين المختبر، والمحتوى النيتروجينى لجثث مجموعة أخرى من الحيوانات التي تم تغذيتها على وجبة خالية من البروتين.

NPU = $\frac{\text{N المحتجز}}{\text{N المتناول}}$ × ١٠٠ = قابلية الهضم الحقيقية

٤- نماذج تقييم الأحماض الأمينية

Amino Acid scoring patterns

تفيد العديد من طرق تقدير جودة البروتين فى إعطاء بيانات عن المحتوى من الأحماض الأمينية. حيث يتم مقارنة محتوى البروتين المختبر من الأحماض الأمينية بنظيره فى البروتين المقارن، لتقدير جودة البروتين تتم على أساس إما الحمض الأمينى الأساسى أو كل الأحماض الأمينية الأساسية، ويمكن تصحيح تقدير جودة البروتين على أساس القابلية للهضم عن طريق الفحص المعملى أو البيولوجى. وبعض الطرق التى تستخدم محتوى البروتين من الأحماض الأمينية. تجرى اختبارات مراقبة جودة مناسبة لهذا الشأن وعندما تشتمل طريقة تقييم الحمض الأمينى على تعديل ما لتقدير القابلية لهضم البروتين فإنها قد تعطى تقديراً أكثر دقة.

ويتم الاستفادة من المعلومات الخاصة بتحليل محتوى الأحماض الأمينية بمقارنتها بمحتوى الأحماض الأمينية فى البروتين المختبر ومع نظيرها فى البيض ولبن الأم أو بروتينات اللبن البقرى، أو مع نموذج قياس وضع على أساس احتياج الإنسان من الأحماض الأمينية لأن الاحتياج من الأحماض الأمينية واللازم لنموه والمحافظة على الخلايا يختلف مع اختلاف العمر.

وتستخدم نماذج قياسية مختلفة لتقدير القيمة الغذائية للبروتين المختبر للأطفال الرضع والأكبر سنا وللبالغين.

وبالنسبة لطريقة تقييم الأحماض الأمينية فإن النموذج القياسى للأطفال عمر ما قبل المدرسة يوصى به لتقدير جودة البروتين فى كل المجموعات ما عدا الأطفال الرضع، بالرغم من أن ذلك قد يعطى تقديراً أقل من الحقيقة للاحتياجات البروتينية وتقديرات أقل من الحقيقة لجودة البروتين للبالغين والأطفال الأكبر سنا. فمثلاً فى الرضع النموذج القياسى الموصى به هو تركيب الأحماض الأمينية الموجودة فى لبن الأم.

إن طرق تقدير جودة البروتين التى تعتمد على تركيب الأحماض الأمينية تتطلب تحليلاً دقيقاً لمحتوى البروتين الموجود فى المادة الغذائية من الأحماض الأمينية، وبوجه عام فإن تركيب الأحماض الأمينية يقدر بتحليل

البروتين مائيا إلى الأحماض الأمينية المكون له ثم فصل الأحماض الأمينية كروماتوجرافيا.

٤-١- طـريقة القابلـية للهضـم التقييم المعدل للأحماض الأمينية
Protein Digestability Corected Amino Acid score (PDCAAS)

خطوات التجربة

لحساب مقدار الحمض الأمينى فى الأحماض الأمينية الأساسية ويقسم كمية كل الحمض الأمينى الأساسى الموجود فى المختبر على الكمية المناظر لهـا فـى البـروتين القياسى طبقا لخطوات إجراء PDCAS يتم استخدام البـروتين القياسـى الـذى أجازته هيئتى (FAO / WHO) سنة ١٩٨٥م لاحتـياجات اللازمة من البروتين من عمر ٢ ٥ سنوات. Amino acid scare.

مقدار الحمض الأمينى الغير معدل = مللجرامات الحمض الأمينى فى ١ جم من البروتين المختبر / مللجرامات الحمض الأمينى فى ١ جم من البروتين القياسى

PDCAAS = amino acid score for limitting amino acid X % true digestibility

الاستخدامات

ما لم يتم توضيح قيمة الحمض الأمينى فيما يتعلق بالقابلية للهضم فإنه لا يعكس بصورة حقيقية جودة البروتين المختبر قيمة الحمضى الأمينى قد لا تكـون صحيحة فى بعض مخاليط الأغذية البروتينية، على الرغم من أن القـيمة قـد تكـون المحسـوبة بالفعل فيما يختص بتركيز كل بروتين من الأحماض الأمينية. وبالمثل فإن القيمة المحسوبة لجودة البروتين فى الأغذية المخـتلفة قـد لا تعطـى مؤشراً جيداً على الجودة الكلية للبروتين فى وجبة غذائية تحتوى على العديد من الأغذية.

ويتأثـر مدى استفادة الجسم من البروتين الموجود فى الوجبة الغذائية بعـدة عوامل مختلفة لا تنعكس على قيم الحمض الأمينى وهذه تشمل وجود الـ anti nutuitonal factor مثل مثبطات الإنزيم الذى يؤثر فى هضم

وامتصاص البروتين، وأيضا فإن الطرق لا تيميز ما بين الأحماض الأمينية ذات الـدوران الضوئي من النوع L ، D، وهناك اتفاق عام على أن طريقة PDCAAS لتقديـــر جودة البروتين تعطى نتائج أفضل بالمقارنة بطريقة PER، وقـد أوصـت هيئة WHO / FAO باستخدام طريقة PPCAAS كمقياس لجودة البروتين.

٥- حساب الـ PER

خطوات التجربة

يتم مقارنة تركيب الأحماض الأمينية لكل الأحماض الأمينية الأساسية في الغذاء مع الـ FAO / WHO standard عندما يتم حساب الـ PER المحسـوبة (C- PER) هي عبارة عن الـ PER المحسوبة من تركيب الأحمـاض الأمينـية للبروتين المختبر وقياس قابلية البروتين للهضم خارج الكـائن الحـي والطـريقة القريبة منها لحساب جودة البروتين وهي الـ discriminote calculated PER (DcPER) تعتمد على حساب تركيب الأحمـاض الأمينـية الأساسـية فقـط الموجـودة فـي الغذاء ومقارنة قيم FAO/WHO القياسية.

التطبيقات

تخـتلف طريقة الـ C. PER ، Dc. PER عن الـ Amino acid scores فـي أنهـا تأخـذ في الاعتبار كل المحتوى من الأحماض الأمينية الأساسـية فـي الوجبة الغذائية. وهذا الاعتبار مفيد خاصة في الأغذية التي تحـتوى على أكثر من حمض أميني أساسي بكميات قليلة نسبيا. وطرق الـ C- PER ، Dc - PER يـوجد اتجـاه لجعلها طرقا بديلة للتقييم البروتيني للأغذية أو لمكونات البروتين عند تقدير جودة البروتين.

واستخدام تقدير C- PER ، Dc- PER معا يعطى تقييما واقعيا لجودة البـروتين في الأغذية ومكوناتها. طريقة C- PER ومعظم الاهتمام بـــ C-PER يرتبط بواقعية مقاييس القابلية للهضم التي تجرى في المعمل.

جدول (٣٥) الأحماض الأمينية (جم/١٦ جم نيتروجين) المقترحة لتقييم البروتينات

الأحماض الأمينية	FAO/WHO/UNU mg/g protein (1985)				FAO	FAO	WHO	Whole
	Infant	1-5 years	10-12 years	Adult	1973	reference protein	/FAO 1973	egg
Isoleucine	55(44-77)	35	25	13	4.2	4.2	5.0	7.62
Leucine	93(83-107)	66	44	19	4.8	4.8	7.0	8.85
Methionine +cystenine	42(29-60)	25	22	17	2.2	2.2	-	-
					2.0		3.5	5.54
Threonine	43(40-5)	34	28	9	2.8	2.6	4.0	5.07
Phenulalanine + Tyrosine	72(68-118)	63	22	19	2.8	2.8	-	-
					-	-	6.0	10.03
Lysine	66(53-76)	58	44	16	4.2	4.2	5.5	6.45
Treptophan	17(16-17)	11	9	5	1.4	1.4	1.0	1.60
Argenine	-	-	-	-	-	2.0	-	-
Histidine	26(18-36)	19	19	16	-	2.4	-	-

المصدر: Alsmeyer , et al, (1974)

هذا ويقدر ما يسمى Chemical score للبروتين على أساس أى من الاتجاهات الموضحة فى الجدول رقم (٣٥) كما يمكن استخدام أربعة أحماض أمينية فقط فى هذا الشأن وهى:

Lysine , methionine , cystine and tryptophan

هذا ويمكن استنتاج بعض المقاييس الحيوية Biological measurements من تحليل الأحماض الأمينية مثل قيم الـ (PER) والتى تعرف باسم Protein efficeincy ratio.

PER = - 0.664 + 0.456 (Leucine) 0.047 (Proline)

PER = - 0.468 + 0.454 (Leucine) O. 0105 (Tyrosine)

PER = - 1.816 + 0.435 ((Mehionine) + 0.078 (Leucine) + 0.211 (Histidine) 0.944 (Tyrosine)

كمــا أن هناك برامج يستخدم فيها الحاسب الآلى لحساب كل من الــ Chemical scores والمقاييس الحيوية.

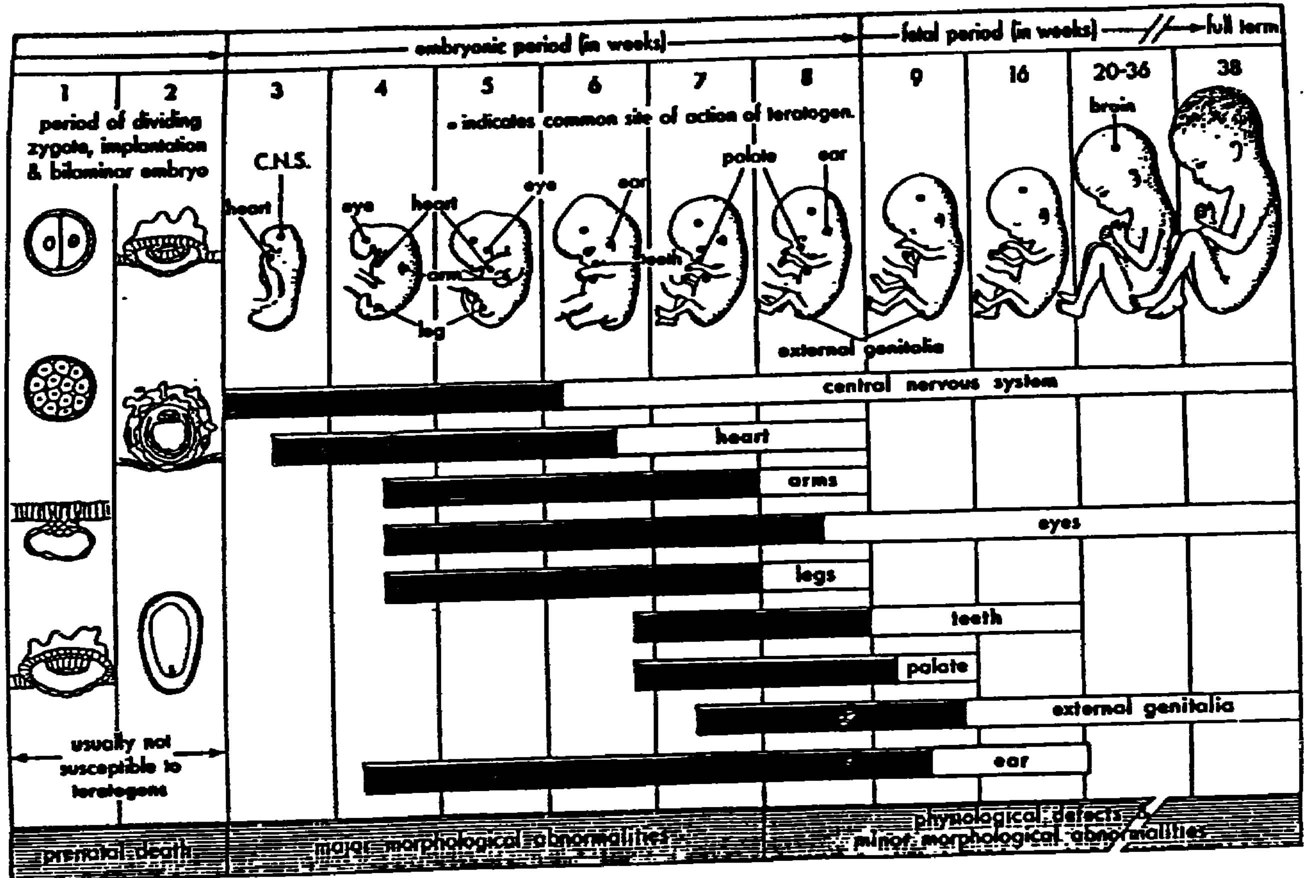
ومن ناحية أخرى يمكن حساب الــ Biolgical value (B.V.) من المعادلة الآتية:

$$B.V. = 1.09\ (EAAI) \quad 11.73$$

حيث تمثل (EAAI) معامل تكافؤ الأحماض الأمينية الأساسية وهو عــبارة عن المتوسط الهندسى لنسبة الأحماض الأمينية الأساسية فى بروتين المادة الغذائية إلى مثيلاتها فى نموذج البروتين الخاص بالــ FAO / WHO ./ UN

ومــن المعروف أن البروتينات والأحماض الأمينية تلعب دورا مهما وحيويا فى تكوين الجنين ومراحل النمو المختلفة، مع الأخذ فى الاعتبار أن كــل مرحلة من المراحل الموضحة فى الشكل رقم (١٣) ترتبط بنوع معين مــن سلاســل الأحمــاض الأمينــية بترتيب معين لتكوين تركيب معين من بروتينات الخلايا.

هــذا والجديــر بالذكر أن الــ PER يتم حسابها عن طريق التجارب الحــيوية باســتخدام فئران التجارب إلا أن حسابها من خلال تقدير الأحماض الأمينية يوفر كلاً من الوقت والتكاليف الاقتصادية ويوضح الجدول رقم (٣٦) مقارنــة بــين قــيم الــ PER المتحصل عليها من حيوانات التجارب وتلك المتحصــل علــيها من المعادلات الرياضية التى تعتمد على تقدير الأحماض الأمينية والسابق الإشارة إليها.



شكل (١٣) : المراحل المختلفة لنمو الجنين

Source: K. L. Moore, *The Developing Human*, 2nd ed. (Philadelphia: Saunders, 1977).

جدول (٣٦) تقدير الــ PER في المنتجات الغذائية رياضيا

Sample	Characterizing ingredients	Observed PER	Estimated PER Eq.1	2	3	Difference in PER (estimated-observed) Eq.1	2	3
Meat and vegetable combinations								
1827	(M10V40)	1.7	1.4	1.6	1.6	-0.3	-0.1	-0.1
2385	(M20V50)	2.3	2.6	2.8	2.3	+0.3	+0.5	0
0570	(M12V50)	2.0	3.5	3.6	4.0	+1.5	+1.6	+2.0
1231	(M10V40)	1.6	1.8	1.7	1.6	+0.2	+0.1	0
1287	(M10V35)	1.6	1.6	1.9	1.7	0	+0.3	+0.1
6210	(M25V40)	3.0	2.8	2.8	3.2	-0.2	-0.2	+0.2
6216	(M25V40)	3.1	2.8	2.8	2.9	-0.3	-0.3	-0.2
6230	(M30V35)	3.0	2.9	2.6	3.0	-0.1	-0.4	0
6250	(M25V40)	2.8	2.8	2.8	2.8	0	0	0
6270	(M25V55)	2.9	1.7	2.8	2.5	-1.2	-0.1	-0.4
6285	(M25V35)	2.5	2.3	2.3	2.6	-0.2	-0.2	+0.1
6316	(M25V30)	2.2	2.0	1.9	2.0	-0.2	-0.3	-0.2
6321	(M20V25)	2.5	2.4	2.5	2.5	-0.1	0	0
6341	(M20V20)	3.0	2.1	2.8	2.7	-0.9	-0.2	-0.3
6679	(M50V50)	2.5	2.4	2.4	2.7	-0.1	-0.1	+0.2
Poultry and vegetable combinations								
2386	(P15V50)	2.0	1.9	2.1	2.0	-0.1	+0.1	0
0553	(P11V55)	1.8	1.9	2.0	1.8	+0.1	+0.2	0
1081	(P5V25)	1.5	0.6	1.3	1.2	-0.9	-0.2	-0.3
6220	(P45V40)	2.7	1.9	2.5	2.8	-0.8	-0.2	-0.1
6290	(P20V0)	2.9	2.0	2.1	2.8	-0.9	-0.8	-0.1
6311	(P30V35)	2.5	2.1	2.3	2.3	-0.4	-0.2	-0.2
6344	(P15V30)	2.7	1.9	2.3	2.8	-0.9	-0.4	-0.1
6677	(P50V45)	2.7	2.2	2.3	2.6	-0.5	-0.4	-0.1
6680	(P25V40)	2.6	2.0	2.1	2.3	-0.6	-0.5	-0.3
Meat, noodle, and vegetable combinations								
1651	(M15,V10,N12)	2.3	1.4	1.6	1.7	-0.9	-0.7	-0.6
2157	(M10,N10)	2.0	1.5	1.6	1.5	-0.5	-0.4	-0.5
1137	(M15,V30,N5)	1.2	1.2	1.6	1.2	0	+0.4	0
1221	(M10,N10,V5)	2.5	1.6	1.8	2.2	-0.9	-0.7	-0.3
6012	(M20,V15,N20)	2.8	3.8	3.9	3.2	+1.0	+1.1	+0.4
6113	(M20,V20,N10)	2.8	2.4	2.5	2.4	-0.4	-0.3	-0.4
6235	(M25,N20,V30)	2.6	2.6	2.7	2.7	0	+0.1	+0.1
6261	(M10,V20,N20)	1.8	1.8	1.9	1.6	0	+0.1	-0.2
6291	(M10,N20,V20)	2.4	2.3	1.6	2.4	-0.1	-0.8	0
6678	(M25,N25,V40)	3.1	2.9	2.1	2.9	-0.2	-1.0	-0.2

تابع جدول (٣٦) تقدير الـ PER في المنتجات الغذائية رياضيا

Sample	Characterizing ingredients	Observed PER	Estimated PER			Difference in PER (estimated-observed)		
			Eq.1	2	3	Eq.1	2	3
Poultry, vegetable, and noodle combinations								
1541	(P7,N6,V5)	1.8	1.6	1.8	1.6	-0.2	0	-0.2
1621	(P6,N10,V5)	2.2	1.1	1.3	1.9	-1.1	-0.9	-0.3
0572	(P13,N6,V10)	1.9	1.2	1.4	1.8	-0.7	-0.5	-0.1
1071	(P6,N4,V80)	1.8	1.1	1.3	1.6	-0.7	-0.5	-0.2
1241	(P5,N15,V10)	2.5	1.3	1.5	1.6	-1.2	-1.0	-0.9
1251	(P5,N15,V2)	2.2	1.5	1.7	2.2	-0.7	-0.5	0
1311	(P6,V30,N5)	1.9	1.2	1.3	2.0	-0.7	-0.6	+0.1
6032	(P15,V15,N20)	2.6	2.0	2.2	2.8	-0.6	-0.4	+0.2
6092	(P15,V15,N20)	2.8	2.4	2.5	2.3	-0.4	-0.3	-0.5
6133	(P20,V20,N10)	2.6	3.1	3.0	2.6	+0.5	+0.4	0
6193	(P18,V15,N10)	2.8	2.4	2.5	2.4	-0.4	-0.3	-0.4
6271	(P10,V20,N20)	2.9	2.1	2.2	2.9	-0.8	-0.7	0
Meat and dairy products combinations								
2540	(M12,N12,D2)	2.5	2.1	2.0	2.3	-0.3	-0.5	-0.2
6274	(M20,V35,D5)	2.9	2.0	2.2	2.7	-0.9	-0.7	-0.2
Meat/poultry and egg combinations								
1841	(P6,E6,V5)	2.0	1.9	2.1	2.1	-0.1	+0.1	+0.1
6686	(M30,E20)	2.8	2.6	2.7	2.7	-0.1	+0.1	-0.1
6690	(M20,E10)	2.9	2.8	2.4	2.9	-0.1	-0.5	0
6695	(M15,E50)	3.4	3.1	2.9	3.3	-0.3	-0.5	-0.1
Marine and vegetable combinations								
1367	(F20,V35)	2.0	1.8	1.9	1.7	-0.2	-0.1	-0.3
6241	(F20,V20)	3.1	2.0	2.2	1.9	-1.1	-0.9	-1.2
6243	(F25,V25)	3.6	2.0	2.3	2.4	+1.6	-1.3	+1.2
6245	(F30,V35)	2.5	1.9	2.0	2.3	-0.6	-0.5	+0.2
Poultry, vegetables, fish, and rice combinations								
6294	(P10,V30,R 15,F10)	1.8	2.3	2.4	1.9	+0.5	+0.6	+0.1
Vegetables (no meat or poultry)								
1601	(V50)	0.5	0.9	1.3	0.9	+0.4	+0.8	+0.4
0571	(V65)	0.8	1.5	1.6	1.0	+0.7	+0.8	+0.2
1021	(V58,N5)	1.2	0.9	1.2	1.2	-0.3	0	0
1141	(V50,N3)	0.9	1.3	1.6	1.2	+0.4	+0.7	+0.3
1151	(V35,N5)	1.1	0.8	0.9	1.0	-0.3`	-0.2	-0.1

تابع جدول (٣٦) تقدير الـ PER في المنتجات الغذائية رياضيا

Sample	Characterizing ingredients	Observed PER	Estimated PER Eq.1	2	3	Difference in PER (estimated-observed) Eq.1	2	3
Noodle and dairy products (no meat or poultry)								
2512	(N20V15D5)	2.4	1.6	1.9	2.2	-0.8	-0.5	-0.2
2701	(N15,D10)	2.4	0.3	2.0	2.4	-2.7	-0.4	0
6260	(N25,D15)	2.6	2.4	2.7	2.3	-0.2	+0.1	-0.3
6265	(V20N15D10)	2.5	2.3	2.4	2.4	-0.2	-0.2	-0.1
Various food products with beans								
1377	(M10B35V30)	0.7	2.2	2.3	2.1	+1.5	+1.6	+1.4
1467	(M4,B50)	0.7	1.9	2.0	1.3	+1.2	+1.3	+0.6
1857	(M11B55V10)	1.2	2.1	2.3	2.1	+0.9	+1.1	+0.9
2387	(M20B35V20)	1.0	2.7	2.9	2.6	+1.7	+1.8	+1.6
2957	(B80,M1)	0.5	3.3	3.4	4.2	+2.8	+2.9	+3.7
1197	(B40,V5)	0.9	1.6	1.8	0.9	+0.7	+0.9	0
1291	(M5,B60)	0.7	2.3	2.4	0.6	+1.6	+1.7	-0.1
6272	(M15V15B20)	1.7	2.4	2.6	1.9	+0.7	+0.9	+0.2
6292	(M12B30V25)	1.5	2.0	2.1	1.8	+0.5	+0.6	+0.3
Miscellaneous products								
1	Lean beef	2.8	2.9	2.9	2.9	+0.1	+0.1	+0.1
2	Partially defatted chopped beef	2.4	2.3	2.5	2.3	-0.1	+0.1	-0.1
3	Partially defatted chopped beef	1.6	1.7	1.6	1.7	+0.1	+0.1	+0.1
4	Partially defatted cured chopped beef	2.6	2.7	2.1	2.6	+0.1	-0.5	0
5	Partially defatted beef fatty tissue	1.1	1.3	1.2	1.3	+0.2	+0.1	+0.2
6	Partially defatted beef fatty tissue	1.7	1.5	1.4	1.5	-0.2	-0.3	+0.2
7	Partially defatted beef fatty tissue	1.7	1.5	1.4	1.5	-0.2	-0.3	+0.2
8	Collagen	0.0	0.1	0.3	0.2	+0.1	+0.3	+0.2
9	Yeast protein	2.1	3.0	2.2	2.3	+0.9	-0.1	+0.2
10	Yeast protein	2.2	3.2	2.4	2.1	+1.0	+0.2	+0.1
11	Yeast protein	2.3	3.3	2.5	2.6	+1.0	+0.2	+0.3
12	Yeast cells	1.9	2.6	2.0	2.8	+0.7	+0.1	+0.1
13	Yeast cells	1.8	2.4	1.6	1.8	+0.6	-0.2	0
14	Yeast cells	1.7	2.5	1.8	1.7	+0.8	+0.1	0
15	Yeast cells	1.8	2.6	1.9	1.7	+0.8	+0.1	-0.1
16	Danish pastry	2.1	2.0	2.0	2.1	+0.1	-0.1	0
17	Beef and partially defatted beef fatty tissue	2.5	2.5	2.4	2.5	0	-0.1	0
18	Beef and partially defatted beef fatty tissue	2.5	2.5	2.4	2.5	0	-0.1	0

المصدر USDA (1973)

M=meat, P=poultry, F=marine products, D=dairy products, E=eggs, V=vegetables, N=noodles, B=bean notation (M20,V15,N20) indicates 20% meat, 15% vegetables, and 20% noodles.

٦- دليل الأحماض الأمينية الأساسية Essential amino acid index (EAAI)

خطوات التجربة

يحسب معامل الأحماض الأمينية الأساسية بأخذ النسبة ما بين البروتين المختبـــر إلى البروتين القياسى لكل حمض من الأحماض الأمينية الأساسية مضافا إليها الهستدين باستخدام المعادلة التالية:

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{\text{ng sample amino acid}}{\text{mg such acid in PR}} \quad X \quad \text{. all essential amino acids}}$$

PR = Protein reference

التطبيقات

تعتبـــر طـــريقة essential amino acid index (EAAI) طريقة سريعة لتقدير جودة البروتين فى الغذاء مثل طرق C- PER , Dc- PER، تحسب هذه الطريقة باستخدام محتوى الغذاء من الأحماض الأمينية الأساسية. ومـــع ذلك فبعكس طرق C- PER , PDCAAS فإنها لا تشتمل على تقدير قابلـــية البـــروتين للهضـــم، ولـــذلك فـــإن هذا المعامل لا يأخذ فى الاعتبار الاخـــتلافات فى جودة البروتين التى ترجع إلى تأثير طرق التصنيع المختلفة أو حسب بعض التفاعلات الكيميائية (مثل تفاعلات ميلارد).

٧- تقديرات قابلية البروتين للهضم Protein Digestability Assays

البـــروتينات يتم هضمها وامتصاصها والاستفادة منها بواسطة أجسامنا ويختلف هضم وامتصاص البروتين من جسم إلى آخر وترجع الاختلافات فى قابلية هضم البروتين لحساسية البروتين لإنزيمات التحلل (فى أنظمة الهضم) ويرتبط ذلك مع التركيب الأول والثانى والثالث للبروتين.

ويؤثـــر وجـــود بعض المكونات غير البروتينية التى تستهلك فى نفس الـــوقت مـــع البروتين على هضم البروتين. وهذه المكونات تشمل الصبغات

والألـــياف والعديـــد من المواد السامة ذات التأثير المثبط للإنزيمات المحللة للبروتين.

ويلاحـــظ ظروف التصنيع والتخزين قد تغير التركيب الثلاثى الأبعاد للبـــروتين ويـــزيد التصنيع من حساسية البروتين للإنزيمات الهاضمة، لأن المزيد من الروابط الببتيدية تكون عرضة لفعل هذه الإنزيمات، ومع ذلك فإن التفاعلات أيضا قد تقلل من حساسية البروتين لإنزيمات الهاضمة، بالإضافة إلـــى ذلـــك فإن هذه التفاعلات تستخدم بعض الأحماض الأمينية مثل تفاعل مـــيلارد، وبالتالـــى يـــؤدى إلى خفض فى القيمة الحيوية عن طريق فقد فى الأحماض الأمينية الأساسية وخاصة الليسين.

٧-١- الاختبارات داخل الكائن الحى In Viva Assays

قابلية هضم البروتين تقيس النسبة الممتصة من النيتروجين البروتينى والصـــورة الشائعة من اختبار قابلية هضم البروتين فى الجسم الحى تعطى أفضـــل الـــدلائل علـــى قابلية هضم البروتين فى الإنسان عن طريق قياس التوازن النيتروجينى فى حيوانات التجارب.

خطوات التجربة

يـــتم تغذية ذكور الفئران المفطومة (٥٠ ٧٠ جم) فى البداية على وجـــبة خالية من البروتين لمدة ٤ أيام كدورة تمهيدية، ثم دورة متوازنة لمدة ٥ أيام (المجموع الكلى ٩ أيام). وكل يوم من الخمسة أيام الخاصة بالدورة المتوازنة يتم تقدير وزن الغذاء المستهلك بالإضافة إلى وزن أى غذاء يتناثر (لـــم يـــتم استهلاكه) وكذلك البراز. مجاميع الفئران يتم تغذيتها سواء على وجـــبة بهـــا البـــروتين المختبر (١٠% بروتين) فى نفس الوقت يتم تغذية مجموعة أخرى من الفئران الخالية من البروتين والوجبة تكون فى حدود ١٥ جم (بالوزن الجاف) يوميا ويقدر المحتوى النيتروجينى فى البراز بطريقة كالداهل.

تختبـــر الوجبات من حيث تحليل النيتروجين البروتينى الرطوبة الدهن الألياف وتحسب قابلية الهضم الحقيقية على أساس كمية النيتروجين

المهضـــوم والغذاء المتناول مع إجراء التعديل اللازم الذى يأخذ فى الاعتبار الفقد فى العلميات الحيوية فى البراز.

% القابلية للهضم الحقيقى =

$$\frac{\text{النتروجين المتناول} \quad (\text{نيتروجين البراز} \quad \text{نيتروجين العمليات الحيوية})}{\text{النيتروجين المتناول}} \times ١٠٠$$

إذا لم يحسب النيتروجين المفقود فى العمليات الحيوية فإن القيمة يطلق عليها فى هذه الحالة:

$$\text{\% قابلية للهضم الظاهرى} = \frac{\text{النيتروجين المتناول} \quad \text{النيتروجين فى البراز}}{\text{النيتروجين المتناول}} \times ١٠٠$$

التطبيقات

يمكـــن دراسة قابلية الهضم فى الفئران مع أخذ الحذر عند تقدير جودة البـــروتين للإنســـان، ومع كل الاحتمالات فإنه يلزم عند تقدير البروتين فى الإنســـان دراســـة الـــتوازن النيتروجينى وملاحظته. ولحسن الحظ فإنه عند مقارنة النتائج المتحصل عليها من الفئران والإنسان كانت متماثلة.

٧-٢- اختبارات معملية خارج الكائن الحى In vivo assays

هـــناك طـــرق عديدة للتحليل الإنزيمى المستخدمة خارج الكائن الحى والتـــى يمكن استخدامها لتقييم هضم البروتينات والاستفادة منها وعادة ما تتم فـــى خطـــوة أو خطوتين باستخدام الإنزيمات المعوية، إنزيمات البنكرياس لثديـــيات أو الإنزيمات المحللة للبروتين والمتضمنة الإنزيمات ذات المصدر البكتيرى. ومن أمثلة الإنزيمات ومجاميعها المستخدمة.

1- pepsin 2- pepsin pancreatin
3- papain 4- papain trypsin
5- ytypsin 6- trypsin chymotrypsin peptidase
7- trypsin chymotrypsin peptidase bactrinal protease.

ويمكن تقسيم طرق فحص القابلية للهضم معمليا من حيث مقدار التحلل ومدى التحلل المبدئى للبروتين. ويمكن التقسيم على أساس الأنزيم المستخدم والطـــريقة المستخدمة فى الهضم. ويتم تقدير القابلية للهضم معمليا بواسطة المحـــتوى البروتينى للأغذية (على أساس محتوى النيتروجينى البروتينى) والـــ pH ودرجـــة حرارة التحضين وعامة هذه الظروف تكون ثابتة تبعا لاحتـــياج الإنزيم. وتتغير نسبة الإنزيم إلى المواد المتفاعلة ويعتمد ذلك على نـــوع الإنـــزيم. وتؤثر نسبة الإنزيم إلى المواد المتفاعلة على معدل التفاعل ونوع وحجم الببتيدات المتكونة أثناء التحلل وعند تقدير القابلية للهضم معمليا لا يهـــم تخمـــر البـــروتين فى الأمعاء، وفى مخلوط الأغذية المعقدة تتغير حساسية البروتين لإنزيمات التحلل.

٧-٣- طريقة خفض الحموضة pH Shift Method

تقديـــر القابلـــية للهضم معمليا له صلة بطريقة لـــ C- PER السابق ذكـــرها ويتم حساب درجة هضم البروتين المختبر بالمقارنة بالكازين. وهذا التقديـــر يعـــتمد على الانخفاض الحادث فى الـــ pH نتيجة لتحلل البروتين. حـــيث تعمـــل إنـــزيمات تحليل البروتين على تكسير الببتيدات وفقد مجاميع الكربوكســـيل وتحـــرر أيونات الهيدروجين التى تسبب خفض رقم الـــ pH للمخلـــوط، ولهذا السبـــب يطلق على هذه الطريقة pH - shift أو pH - drop.

وتتلخص الطريقة فى وضع وزنه من البروتين فى محلول على درجة ٣٧م مـــع ضبط رقم الحموضة الـــ pH الى ٨ ثم يضاف إنزيمات التربس Trypsin ولكيموتريســـين Chemotrypsin والببتيديـــز peptidase وبعد فتـــرة ١٠ دقائق يضاف إنزيم البروتيز البكتيرى bactrial pratecase ثم توضع الأنابيب فى حمام مائى على درجة ٥٥م ثم على درجة ٣٧م لمدة ٢٠ دقيقة ثم يعين رقم الحموضة. وتحسب درجة القابلية للهضم كما يلى:

نسبة القابلية للهضم = ٢٣٤,٨٤ [٢٢,٥٦ × رقم الحموضة بعد ٢٠ دقيقة]

واختـــبار القابلية للهضم حساس لدرجة أنه يكشف عن وجود مثبطات التربســـين فى فول الصويا والتغيرات فى قابلية البروتين للهضم التى تحدث خـــلال المعاملات المختلفة. وبالرغم من أنه يتم ربط القيمة الهضمية المقدرة بطــريقة الـــ pH-Shift جيدا مع نتائج القابلية للهضم داخل الكائن الحى للمصـــادر المرتفعة فى البروتينات فإنها لا تحدد بالضبط الاختلافات الكمية ما بين العينات المرتفعة والمنخفضة فى القيمة الهضمية.

والعيب الرئيسى فى طريقة الـــ pH Shift أن الـــ pH يكون غير ثابـــت أثـــناء ســـير التفاعل كما أن السعة التنظيمية buffering capacity للببتيدات والبروتينات والمواد الأخرى للغذاء ربما تتأثر بتغير رقم الـــ pH أثـــناء هـــذا النوع من الاختبارات. وهى لا تعكس القيمة الهضمية الحقيقية للبروتينات.

٧-٤- طريقة pH State

للـــتغلب على المشاكل الموجودة بطريقة pH - shift تم تطويرطريقة لتقدير قابلية البروتين للهضم بتثبيت رقم الـــ pH لمخلوط التفاعل أثناء فترة التحضين. وتتلخص الطريقة يما يلى:

وضـــع كمية من البروتين فى محلول على درجة ٣٧ م مع ضبط رقم الحموضـــة والـــ pH إلـــى ٨ ثـــم يضـــاف معلـــق من إنزيمات التربس والكيموتربســـين والببتيديز ثم يعاد بواسطة محلول أيدروكسيد صوديوم ٠,١ عيارى وتقدر حجم القلوى اللازم للمحافظة على رقم الحموضة لتكون ٧,٩٨ لمدة ١٠ دقائق. احسب نسبة القابلية للهضم كما يلى:

نسبة القابلية للهضم = ٧٦,١٤ + [٤٧,٧٧ × ب]

حيث ب هى حجم القلوى بالمليليتر

وفى هذه الحالة يتم استخدام نفس الإنزيمات المستعملة فى طريقة الـــ pH shift. ويـــتم استنتاج قابلية البروتين للهضم فى طريقة الـــ pH state من حجم القاعدة القياسية (٠,١ ع ص أ يد) المضافة أثناء التحضين للمحافظـــة على ثبات الـــ pH عند رقم ٨ أثناء التحضين الإنزيمى وبصفة

عامة فإن طريقة الـ pH state أكثر دقة من طريقة الـ pH shift وترتبط بصورة أفضل مع القيم الهضمية داخل الكائن الحى، وكان معامل الارتباط لعدد ٣١ نوعاً من البروتينات النباتية والحيوانية أكبر من ٠,٩ مع قابلية الهضم داخل الكائن الحى لنفس البروتين.

٧-٥- طريقة الإنزيم المحمل Immobilized Enzyme Assay

حديثا تم تطوير طريقة تقدير القابلية للهضم خارج الكائن الحى حيث تحمل الإنزيمات على كريات مسامية قطرها كبير (2000 Ao) من خلال الارتباط الآميدى. حيث تمرر العينة خلال جهاز الهضم الحيوى الذى يحتوى على إنزيم الببسين المحمل ثم على الجهاز المحتوى على التربسين والكيموتربسين المحمل وإنزيمات تحليل الببتيدات المعوية. حيث تتفاعل الأمينات الموجودة فى العينة المهضومة فى البداية O-phthaldhyed (OPA) ويتم حساب جزء الروابط الببتيدية الكلية المحللة من قيم الامتصاص، وهذه الطريقة تستغرق وقتا ولكن لها العديد من المميزات ونتائجها ترتبط جيدا مع التقديرات الحيوية على الفئران بالمقياس للاختلافات الواسعة فى بروتينات الغذاء.

٨- الحمض الأمينى المتاح Amino acid Availability

طريقة الحمض الأمينى المتاح تقيس القابلية للهضم النسبية للأحماض الأمينية المستقلة. وتمتص وتهضم الأحماض الأمينية فى البروتين بمعدلات مختلفة لأسباب عديدة وتؤثر على الاستفادة من البروتين. فعلى سبيل المثال يختلف معدل امتصاص الحمض الأمينى فى مخلوط بروتين عن معدل امتصاص نفس الحمض الأمينى فى مخلوط بروتينى آخر والأحماض الأمينية الحرة تمتص بسرعة عن الأحماض الأمينية المكونة للبروتين. وهناك طرق نموذجية لتقدير الحمض الأمينى على أساس افتراض وجود علاقة خطية مباشرة بين تركيز الحمض الأمينى المحدد والاستفادة منه فى البروتين. والافتراض الثانى أن توازن الحمض الأمينى فى البروتين لا يؤثر على الاستفادة من الأحماض الأمينية الأساسية فى الغذاء خاصة الحمض الأمينى المحدد بالإضافة إلى أن توازن الحمض الأمينى يلعب دوراً

مهماً فى الجودة العامة لبروتينات الغذاء. ولكن هذا لا يعكس بصفة عامة أن تقدير نماذج الأحماض الأمينية يرتبط بقابليتها للهضم خصوصا عندما تكون الطـريقة المعملـية (خـارج الكـائن الحى) هى المستخدمة لتحديد قابلية البروتين للهضم.

وتتأثـر قابلية البروتين للهضم بعدة عوامل، فعلى سبيل المثال يحدث تغيـر للتركيب الثانى أو الثالث للبروتين أثناء المعاملة الحرارية أو بواسطة المعـاملات الأخـرى مما يؤدى لزيادة قابلية البروتين للهضم، لأن الروابط الببتـيدية تكـون أكثـر عرضة للتأثير عليها. ومع ذلك نجد أن التفاعلات الشائعة فى الأغذية مثل تفاعل التلون البنى (ميلارد) يسبب ربط للأحماض الأمينـية مما يؤدى لانخفاض قابلية البروتين للهضم بصفة عامة. ولا يعطى تـركيب الأحماض الأمينية انطباعا عن كيفية الاستفادة من الحمض الأمينى ولـذلك كان من المطلوب وجود اختبار آخر لتقدير الاستفادة من الأحماض الأمينية الأساسية الفردية.

ويـؤدى تفاعـل ميلارد للتلون البنى إلى حدوث فقد فى الليسين، كما يحـدث فقـد فـى الأحماض الأمينية الكبريتية (الميثونين، السستين) أثناء المعـاملات. وتؤدى المعاملة الحرارية إلى تحطيم البروتينات لدرجة تؤدى لانخفـاض قابليته للهضم كما تتأثر الاستفادة الحيوية من الأحماض الأمينية الأساسية الموجودة بالغذاء.

يتشـابه سـلوك تقديـر الحمض الأمينى المتاح مع طريقة تقدير القيم الهضمية الظاهرية. ومن ناحية أخرى نجد أنه بدلا من القياس البسيط لمحتوى الوجبة والبراز من النيتروجين يتم تقدير صور الحمض الأمينى فى كل منهما.

ويسـهم حسـاب اتزان الحمض الأمينى لكل الأحماض الأمينية ولكن بصـفة عامـة يقتصر ذلك على الحمض الأمينى المحدد الأول أو الحمض الأولى والثانى المحددان.

اتزان الحمض الأمينى =

الحمض الأمينى المتناول (جرام)   الحمض الأمينى المفرز فى البراز (جرام).

وفى طريقة تقدير الحمض الأمينى المتاح داخل الكائن الحى يغالى فى جودة البروتين لأن الجزء المعنوى من الأحماض الأمينية الأساسية المحددة (الليســين، الميثيونين، السستين، الثريونين والتربتوفان) يفقد بواسطة التخمر الميكروبى فى الأمعاء الغليظة.

التقديرات الميكروبيولوجية للحمض الأمينى المتاح

Microbilogical Assays for Amino Acid Available

التقديــرات الميكــروبيولوجية باســتخدام بكتريا: Streptococcus Zymogenes or pidococcus cerevisia (acidolacti) or the protozoain Tetrahymena pyriformi مــن الممكن استخدامها لحساب الحمــض الأمينى المتاح.. ففى البداية يتم معاملة البروتين المختبر بالإنزيم المحلــل للبــروتين (أى الــ Papain) قبل إضافة الميكروب إلى مخلوط التحضــين لاختصار الوقت المطلوب للاختبار. ويتم تحضين الميكروب فى بيــئة تحتوى على البروتين المختبر المحلل جزئيا. ويتم استخدام العديد من تركيــزات البــروتين المختبر. وتستغرق فترة التحضين عدة أيام تبعا لنوع الميكــروبات ويعمــل النمو الميكروبى لمعدل مناسب ويتم حساب الحمض الأمينى المتاح بيولوجيا.

ويســتخدم ميكــروب الـــ S zymogenes لتقدير كل من الأرجنين المتاح، الهستدين، الليوسين، الأيزوليوسين، الفالين، المثيونين والترتوفان ولا يحــتاج الميكــروب لوجــود الليسين ولا يستطيع قياس هذا الحمض. ويقدر حمــض الليســين ميكروبيولوجيا باستخدام ميكروب P. cerevisia ويمكن اســتخدام الـــ Protozoan T. pyriformis لتقديــر واختبار الأحماض الأمينية التالية: الأرجنين (الذى يحتاجه الفئران)، الهستدين، الأيزوليوسين، الليوســين، الليســين، المثيونــين + السســتين، الفنيل آلانين + التيروزن، الثــريونين، التربتوفان أو الفالين. والمعلومات المتحصل عليها من الاختبار باســتخدام T. pyrifarmis تــرتبط جــيدا مع النتائج المتحصل عليها من الاختبارات الحيوية على الفئران.

ومـــن ناحية أخرى نجد أن العديد من الإضافات الشائعة التى تضاف للغذاء وتشمل: البروبيونات، البنزوات، السوربات، النترات، erythorbate، الأســكوربات وبعض التوابل تتداخل أو تتعارض مع التحليل باستخدام الــ protozoan.

٩- تقدير الليسين Assay of Lysine

١- تقدير الليسين باستخدام 1- Fluaro 2,4 D initrobenzene

يـــتفاعل البـــروتين المختبـــر مـــع الـــــ 1-Fluoro 2,4 dinitrobenzene (DNF B) حـيث يـتفاعل الـ DNFB مع مجموعة الأمـــين الحـــرة فـــى الليسين ويتم تقدير صورة الحمض الأمينى للبروتين المختبـــر المعامل بـــ DNFB بالإضافة إلى البروتين المختبر الغير معامل بهـــذه المـــادة. وكمـــية الليسين المستفاد منها حيويا عبارة عن كمية الليسين الموجـــودة فى العينة الغير معاملة مطروحاً منها الكمية الموجودة فى العينة المعاملة بـــ DNF B.

وتشـــمل الطـــرق الأســبكتروفوتومترية لتقدير الليسين المتاح تفاعل البـــروتين مع الـــ CDNF B التحليل الحامضى للبروتين ومقارنة كمية الـــ reactive lysine DNFB مقـــدرة جـــرام لكل ١٦ جرام نيتروجين مع الليســين هيدروكلوريد مونوهيدريت القياسية (DNP-lysine) وبصفة عامة فـــإن طـــريقة الـــ reactive lysine - تعطى دلالة جيدة عن كمية الليسين المـــتاحة حـــيويا فـــى البذور الزيتية، مسحوق اللبن، دقيق الأسماك. وهذه الطـــريقة تناســـب بدرجـــة أقل البروتينات المحللة جزئيا مثل الخضراوات المحللة، بروتينات اللحوم، مسحوق الأسماك، وبروتينات الأغذية التى تحتوى على نسبة عالية من السكريات المختزلة مثل بعض الحبوب. لأن السكريات التـــى تتحرر أثناء التحليل تؤدى إلى انخفاض مشتقات الـــ DNA lysine بمقدار ٣٠%. وللتغلب على هذه المشكلة عند تحليل هذه الأغذية يتم إضافة كمية زائدة من الـــ DNF B لوسط التفاعل.

٢- تقدير الليسين باستخدام Trinitrobenzene sulfonic

يســتخدم الكاشــف القابلــة للذوبان فى الماء Trinitrobenzenes sulfonic Acid (TNBS) لقياس الليسين الحر. ومع ذلك نجد أن مشتقات الــ lysine TNBS تكون أكثر عرضة للفقد أثناء التحليل الحامضى عن مشــتقات الــــ DNFB وكما هو الحالة فى الــ DNFB فإن الــ TNBS تــتفاعل مــع مشتقات الليسين المتكونة فى بداية تفاعل ميلارد للتلون البنى والتــى تحجــز ولا يستفاد منها حيويا. ويحدث تحلل لمشتقات الــ TNBS المــتكونة أثــناء تفاعــل ميلارد وتنتج labeled lysine complex بينما مشتقات الــ DNP لا يحدث لها ذلك.

٣- الطرق الإنزيمية Enzymatic methods

الطــرق الإنــزيمية لتقديــر الليســين المــتاح مفيدة خاصة للأغذية الكــربوهيدراتية وإنــزيم الــ lysine decarboxylase متخصص لدرجة كبيرة لحمض L- lysine وينتج CO_2 , biogenic amine cadaverine وأى منهما يمكن قياسه باستخدام التحليل الكروماتوجرافى الغازى.

٤- طرق الارتباط مع الصبغة Dye binding - method

قدرة الارتباط للصبغات الــ Oza مثل:

Orange 12 , Acrilane orange G , 1- phenylaso 2- naphthol 6 sulfonic acid.

علــى مجامــيــع الأمــين القاعدية لليسين، الهستدين أو الأرجنين يتم ربطها جيدا مع الطرق الأحيائية (على الفئران) وهذه القياسات سريعة ومفيدة خاصــة لاختــبار التحطــيم الحادث لبروتينات البذور الزيتية والحبوب بتأثير الحــرارة. والنتائج تكون أقل دقة فى حالة اللحوم والأسماك ويمكن أن ترتبط صــبغات الــــ Oza مع النواتج الأساسية المتكونة فى البداية لتفاعل ميلارد، ولذلك فإن هذه الطريقة لا يمكن استخدامها للكشف عن التلف الحرارى الحادث لبروتينات اللبن، وفى حالة الألبان المجففة والمنتجات الشبيهة لها يستخدم نوع مــن الصــبغات يعــرف باسم: Remazol Brilliant Blue للمساعدة فى

الكشف عن النواتج الأولية لتفاعل ميلارد. وتتفاعل الصبغة مع مجاميع الأمين الحرة لليسين وكذلك مجموعة الثيول للسستين.

٩-٢- تقديرات الأحماض الأمينية الكبريتية

Assay for Sulfur Contaning Amino Acids

تعتبـــر الأحماض الأمينية الكبريتية مثل المثيونين، السستين، السستين عـــادة الأحماض الأمينية المحدد فى الأغذية. وحيث إن هذه الأحماض يمكن أن تتأكسد بسرعة إلى صورة غير مستفاد لها أثناء التجفيف، التبيض وبعض المعـــاملات الأخرى فإنه من المهم تواجد طرق لتقدير الصورة المتاحة منها غذائـــيا. ويتم قياس السستين / السستين المتاح بتحويل السستين إلى سستئين بواســـطة dithiothreitol ثم يتفاعل السستئين مع -2 dithiobis 5,5 nitrobenzoic acid (DTNB) كمية المشتقات المتكونة.

والمثيونـــين يمكنه اختزال الـــ dimethyl sulfoxide (Me_2SO) الى dimethyl sulbide (Me_2S) والذى يمكن تقديره كميا بواسطة جهاز gas chromatogrophy. والنـــتائج المتحصـــل علـــيها مـــن طريقة الـــ dimethyl sufide ترتبط جيدا مع الطرق البيولوجية لتقدير المثيونين.

الليبيدات Lipids

تعبـــر الليبيدات عن مجموعة من المركبات الكيميائية التى تتكون من وحـــدات تـــركيبية حيوية تتميز بأنها غير متجانسة Heterogeneous وغير محـــبة للمـــاء Hydrophobicity أى لاتذوب فى الماء إلا بصعوبة كبيرة، ولكنها تذوب فى المذيبات العضوية مثل الهكسان، الكلوروفورم الإيثير إلخ ولقد استخدمت خاصية عدم الذوبان فى الماء كأساس لتمييز الزيوت والدهون عن الكربوهيدرات أو البروتينات.

وتشـــمل الليبـــيدات مجمـــوعة كبيرة من المكونات مثل الجليسريدات Glycerides – إســـــترات الشـــــموع Wax esters – الفوســـــفوليبيدات Phospholipids – الجليكوليبـــيدات Glycolipids – الليبـــيدات الكبـــريتية Sulfolipids – الفيتاميـــنات القابلـــة للـــذوبان فـــى الدهون Fat soluble vitamins الكاروتينات Carotenes – الاستيرولات Sterols.

وبعـــض الليبيدات ذات نشاط سطحى حيث تحتوى على مجاميع محبة للماء Hydrophilic وأخرى كارهة أو غير محبة Hydrophobic ومن هنا فهى مركبات مزدوجة التركيب.

والليبـــيدات عـــبارة عن مشتقات للأحماض الدهنية، ولذا فهى تسمى acyl lipids وفـــيها تـــوجد الأحماض الدهنية كأسترات esters وفى بعض مجاميع الليبيدات الأخرى توجد الأحماض الدهنية فى صورة أميدات amids كمـــا تؤثر المشتقات الأسيلية acyl derivatives بدرجة كبيرة على خاصية الـــ hydrophobicity لليبيدات.

وتؤثر الليبيدات على خواص الجودة الحسية للأغذية Organoleptic quality.

وتخـــتلف نســـبة الليبيدات فى الأغذية سواء الحيوانية منها أو النباتية والجدول رقم (٣٧) يوضح محتوى الأغذية من هذه الليبيدات.

جدول رقم (٣٧): محتوى بعض الأغذية من الدهون

Food Item	*Percent Fat (wet weight basis)*
Cereals, bread, and pasta	
Rice, white, long-grain, regular, raw, enriched	0.7
Sorghum	3.3
Wheat, soft white	2.0
Wheat germ, crude	9.7
Rye bread	3.3
Macaroni, dry, enriched	1.6
Diary products	
Milk, whole, fluid	3.3
Skim milk, fluid	0.2
Cheddar cheese	33.1
Yogurt, plain, whole milk	3.2
Fats and oils	
Lard, shortening, oils	100.0
Butter, with salt	81.1
Margarine, regular, hard, soybean	80.5
Salad dressing	
Italian, commercial, regular	48.3
Mayonnaise, soybean oil, with salt	79.4
Fruits and vegetables	0.1 1.2
Legumes	
Soybeans, mature seeds, raw	19.9
Black beans, mature seed, raw	1.4
Meat, poultry, and fish	
Beef, flank, separable lean and fat	10.7
Chicken, broilers or fryers, breast meat only	1.2
Bacon, pork, cured	57.5
Pork, fresh, loin, whole	12.6
Finfish, halibut, Atlantic and Pacific, raw	2.3
Nuts	
Coconut meat, raw	33.5
Almonds, dried, unblanched	52.2
Walnuts, black, dried	56.6
Egg, whole, raw, fresh	10.0

المصدر: USDA (1997)

وتعتبـــر الليبـــيدات ذات أهمية تغذوية وفسيولوجية كبيرة فهى مصدر للطاقـــة ومصـــدر للأحمـــاض الدهنـــية الأساسية Essential fatty acids والفيتاميـــنات القابلة للذوبان فى الليبيدات وهى فيتامينات A, D, E, K كما أنها ترتبط مع البروتينات مكونة الليبوبروتينات Lipoproteins وهى مكون مهم فى الخلية الحية ووسيلة لنقل الليبيدات فى الدم.

تقسيم الليبيدات Classification of lipids

توجد عدة طرق لتقسيم الليبيدات هي:

أولا: على أساس الصورة التى توجد عليها الليبيدات:

١- ليبيدات أو دهون مرئية Visible fats وهذه تشمل الزبد Butter - شحم البقر Tallow - المارجرين Margarine - الشورتنتج Shortening - شـــحم الخنزيـــر Lard - زيـــوت السلاطة Salad oils - زيوت الطبخ Cooking oils.

٢- ليبيدات أو دهون غير مرئية Invisible fats وهى توجد كمكونات للأغذيـــة ســـواء النباتـــية أو الحيوانية مثل دهن اللبن ومنتجاته - اللحوم - البيض - الدجاج - الاسماك - الفواكه - الخضراوات - الحبوب.

ثانيا: على أساس نواتج التحليل المائى

وهى تقسم إلى ثلاثة أقسام رئيسية:

١- ليبيدات بسيطة Simple or neutral lipids

وهـــى عبارة عن استرات الأحماض الدهنية وتشمل الزيوت والدهون fats & oils (اســـترات الأحماض الدهنية مع الجليسرول) والشموع waxes (استرات الأحماض الدهنية مع كحولات طويلة السلسلة الكربونية).

وتخـــتلف الـــزيوت oils عن الدهون fats فى الصفة الطبيعية والتى تـــرجع إلـــى الاخـــتـــلاف فـــى التركيب الكيماوى من حيث نسبة ونوعية الأحمـــاض الدهنـــية، فالزيت سائل على درجة حرارة الغرفة نظرا لارتفاع

محتواه من الأحماض الدهنية غير المشبعة unsaturated fatty acids بالنسبة للأحماض الدهنية المشبعة saturated fatty acids والعكس بالنسبة للدهون fats التى تبدو صلبة القوام على درجة حرارة الغرفة نظرا لارتفاع محتواها من الأحماض الدهنية المشبعة.

٢- ليبيدات مركبة Compound lipids

وهى عبارة عن استرات الأحماض الدهنية تحتوى على مجاميع أخرى إضافية وهذه الليبيدات تشمل:

أ - الفوسفوليبيدات Phospholipids: وهى تتركب من جليسرول، أحماض دهنية، حمض فوسفوريك قاعدة أزوتية وهذه الفوسفوليبيدات تشمل المكونات الآتية: فوسفاتيديل كولين phosphatidyl choline والذى يسمى الليثسين lecithin - فوسفاتيديل إيثانول أمين phosphatidyl ethanol amine والفوسفاتيديل سرين phosphatidyl serine وهما يسميان بالكيفاليـنات cephalins - فوسفاتيديل أينوزيتول phosphatidyl inositol - الاسفنجوميلين sphingomylin - البلازمالوجين Plasmalogen.

ب - الجليكوليبيدات Glycolipids: وهى تتركب أساسا من أحماض دهنية وكربوهيدرات (هكسوزات) وقاعدة نيتروجينية ولكنها لاتحتوى على حمض فوسفوريك وهى تسمى أيضا السربروسيدات Cerebrosides.

ج - مركبات ليبيدية أخري: وهذه تشمل ليبوبروتينات lipoproteins الليبيدات الكبريتية sulfolipids - الأمينوليبيدات aminolipids.

٣- الليبيدات المشتقة Derived lipids

وهذه تشمل الأحماض الدهنية fatty acids - الجليسرول Glycrol، الاستيرولات sterols - الكحولات alcohols - حمض فوسفوريك phosphoric acid - قواعد أزوتية nitrogen compounds - كربوهيدرات carbohydrates، وهذه المشتقات هى نواتج تحليل المكونات الليبيدات السابق ذكرها.

ثالثا: على أساس درجة القطبية

تقسـم الليبيدات إلى قسمين كبيرين وهما الليبيدات المتعادلة neutral lipids والليبـيدات القطبـية polar lipids ويـرجع الاختلاف بينهمـا إلى الخـواص الطبيعية والتى تتمثل فى الذوبان فالأول تذوب فى المذيبات غير القطبـية كمـا أنها لا تحتوى على أى من المجموعات التى تظهر الخواص القطبـية polarity فـى حـين تحتوى الليبيدات القطبية على مجاميع تظهر الخـواص القطبـية مثل الجليسروفوسفوليبيدات – الاسفنجوفوسفوليبيدات – الجليسروجليكوليبيدات – الاسفنجوجليكوليبيدات.

رابعا: على أساس نوع الرابطة التى يتصل بها الحمض الدهنى

فالأحمـاض الدهنية قد توجد على هيئة استرات وبالتالى فإن الرابطة المـتكونة تكـون رابطـة اسـتيرية وهذه تشمل الجليسريدات – الشموع – جليكوليبـيدات – الفوسـفوليبيدات (الأحمـاض الفوسـفاتيدية، فوسفاتيديل الجليسـرول، استرات حمض الفوسفاتيديك، اينوزيتول الفوسفاتيديك). وقد تـرتبط الأحمـاض الدهنـية على صورة رابطة أميد amids وهذه تشمل السربوسيدات، السفنجوميلين.

Lipid classification تقسيم الليبيدات

I. Simple lipids (not saponifiable)	
Free fatty acids, isoprenoid lipids (steroids, carotenoids, monoterpenes), tocopherols	
II Acylipids (saponifiable)	**Constituents**
Mono-, di-, triacylglycerols	Fatty acid, glycerol
Phospholipids (phosphatides)	Fatty acid, glycerol or sphingosine, phosphoric acid, organic base
Glycolipids	Fatty acid, glycerol or sphinogosine, mono-, di- or oligosaccharide
Diol lipids	Fatty acid, ethane, propane, or butane diol
Waxes	Fatty acid, fatty alcohol
Sterol esters	Fatty acid, sterol

Neutral lipids	Polar (amphiphilic) lipids
Fatty acids (> C_{12})	Glycerophospholipid
Mono-, di-, triacylglycerols	Glyceroglycolipid
Sterols, sterol esters	Sphingophospholipid
Carotenoids	Sphingoglycolipid
Waxes	
Tocopherols	

الاحماض الدهنية: Fatty acids

وهـــى أحمـــاض عضـــوية ذات سلاســـل كـــربونية مستقيمة اليفانية aliphatic fatty acids أو متفـــرعة branched أو حلقية Alicyclic، وتقسم الأحماض الدهنية تبعا لعدة أسس:

أ - علـــى أساس درجة التشبع تقسم إلى أحماض دهنية مشبعة saturated fatty acids وأحماض دهنية غير مشبعة unsaturated fatty acids

ب - علـــى اســـاس درجـــة القطبـــية تقسم إلى أحماض دهنية غير قطبية nonpolar side chain وهـــذه تشـــمل الأحمـــاض المشـــبعة وغير المشبعة والقسم الثانى أحماض دهنية ذات سلسلة قطبية polar chain وهـــذه تشمل الأحماض الهيدروكسيلية Hydroxyl acids والأحماض الكيتونية Keto acids.

جـــ على أساس طول السلسلة الكربونية تقسم إلى أحماض دهنية قصيرة السلســـلة short chain acids وأحمـــاض دهنية طويلة السلسلة long chain acids.

د - علـــى أســـاس عـــدد الذرات الكربونية تقسم إلى أحماض زوجية عدد الـــذرات even numbered وأحماض دهنية فردية عدد الذرات Odd numbered.

هـــ على أساس شكل السلسلة الكربونية فتقسم إلى أحماض دهنية اليفانية وأحماض دهنية متفرعة والتى تشمل الأحماض المتفرعة ذات الشوكة الطـــرفية تســـمى iso وهى غالبا زوجية عدد ذرات الكربون أو التى تســـمى anteiso وهـــى غالبا فردية عدد ذرات الكربون كذلك توجد الأحماض الدهنية الحلقية، وهنا يكون التركيب الحلقى إما تكون الحلقة ثلاثية مشبعة cyclopropyl أو غير مشبعة cyclopropenyl أو حلقة خماسية غير مشبعة.

و - على أساس ترتيب الروابط الزوجية وذلك فى الأحماض غير المشبعة فتقســـم إلـــى أحمـــاض دهنـــية عديـــدة عـــدم التشبع غير المتبادلة

وهـــذه الأحماض تحتوى على نظام الروابط الزوجية unconjugated التـــى تفصل بينها مجموعة ميثيلين – CH_2 – كما أن هناك أحماض دهنية عديدة عدم التشبع المتبادلة conjugated.

ويمكـــن تســـمية الأحمـــاض الدهنـــية تـــبعا لطريقة جنيفا Geneva convention حـــيث يشتق اسم الحامض من الهيدروكربون المشبع أو غير المشـــبع القابل مع استبدال المقطع النهائى e فى اسم الهيدروكربون بالمقطع oic للحمـــض المشـــبع، فمـــثلا هيدروكربون أوكتان octane فإن الحمض المقابـــل لـــه هو octanoic حمض اوكتانيويك بينما فى الحمض الغير مشبع فـــان المقطع e فى الهيروكربون يستبدل بالمقطع enoic وبالتالى يكون اسم الحمـــض غيـــر المشبع هو octanenoic، ويبدأ ترقيم السلسلة الكربونية فى الحمـــض مـــن جهـــة مجموعة الكربوكسيل كما تسمى ذرة الكربون الأولى المجـــاورة لمجموعة الكربوكسيل بالذرة ألفا α والذرة الثانية بالذرة بيتا β، وهناك طريقة مختصرة مبسطة لكتابة الحمض الدهنى فيكتب الرمز C وعلى مســـتوى منخفض مجاور للرمز يكتب عددان بينهما نقطتان رأسيتان، حيث يـــدل العـــدد الأول علـــى عدد ذرات الكربون ويدل العدد الثانى على عدد الـــروابط الـــزوجية غير المشبعة، كما تكتب أرقام بين قوسين بجوار العدد الدال على الروابط الزوجية، وهذه الأرقام تدل على موضع هذه الروابط او يستخدم الرمز Δ موضوعا فوقه الأرقام الدالة على موضع الروابط.

ويمكن توضيح التسمية المختصرة للأحماض الدهنية فيما يلي:

حمض الاستياريك stearic $C_{18:0}$

ومعـــناه أن الحمـــض يحتوى على ١٨ ذرة كربون ولا توجد روابط زوجية أى أن الحمض مشبع.

حمض لينوليك linoleic $C_{18:2}$ (9, 12) or $C_{18:2}\ \Delta^{9,12}$

ومعـــناه أن الحمـــض يحـــتوى علـــى ١٨ ذرة كربون وبه رابطتان زوجيتان عند ذرتى كربون ٩، ١٢ وهى جمض غير مشبع.

كمـــا يمكن تحديد الرابطة الزوجية من جهة مجموعة الميثيل الطرفية للسلسلة الكربونية، وذلك بترقيم السلسلة الكربونية من جهة مجموعة الميثيل وتحديـــد الــرابطة الزوجية بالمقطع ω اوميجا، وعلى ذلك فإن الأحماض الدهنـــية غير المشبعة تقسم إلى مجاميع تبعا لموضع الرابطة الزوجية بهذه الطـــريقة فهناك مجموعة الأحماض الدهنية ω_3 وتسمى مجموعة اللينولينيك linolenic group وكـــذلك مجموعة الأحماض ω_6 وتسمى مجموعة حمض اللينوليك linoleic group ومجموعة الأحماض ω_9 وتسمى مجموعة حمض الأوليك oleic group.

وجدير بالذكر فإن حمض الأيروسيك erucic acid $C_{20:1}$ والذى يوجد فـــى المســـتردة mustard ينتمـــى إلى مجموعة أحماض ω_9، بينما الحمض الدهنى أراكيدونيك arachidonic $C_{20:4}$ والذى يوجد فى اللحوم والكبد ودهن الخنزير وليبيدات بيض الدجاج فهو ينتمى إلى مجموعة حمض ω_6، فى حين أن الأحماض الدهنية ذات السلسلة الكربونية C_{20}-C_{22} والتى تحـــتوى على ٥-٦ روابـــط زوجـــية والتـــى تسمى الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع polyunsaturated acids والتـــى توجد فى ليبيدات الأسماك فهى تنتمى إلى مجمـــوعة ω_3، والأحمـــاض الدهنية ذات السلسلة الكربونية C_4-C_{10} وهى الأحماض القصيرة السلسلة فإنها تذوب فى الماء بينما الأحماض ذات السلسلة الكـــربونية أكثـــر مـــن C_{12} فهى غير قابلة للذوبان فى الماء بل تذوب فى المذيبات العضوية.

والأحماض الدهنية قصيرة السلسلة الكربونية (أقل من C_{14}) توجد فى جليســـريدات ليبـــيدات الألـــبان وزيت جوز الهند وزيت النخيل كما أن هذه الأحمـــاض تـــوجد فى صورة حرة أو فى صورة استرات وتكون مركبات الرائحة المميزة للمنتج.

الأحمـــاض الدهنـــية غيـــر المشبعة تقسم بدورها تبعا لعدد الروابـــط الـــزوجية فالأحماض الدهنية التى تحتوى على رابطة زوجية واحدة تسمى الأحمـــاض الدهنـــية الأحادية عدم التشبع monounsaturated fatty acids، بينما الأحماض الدهنية التى تحتوى على رابطتين زوجيتين تسمى الأحماض

الدهنية ثنائية الرابطة dienoic unsaturated fatty acids، وهناك الأحماض الدهنـــية ثلاثــية الرابطة Trienoic unsaturated fatty acids، والأحماض التـــى تحتوى على عدد روابط أكثر من ذلك تسمى الأحماض الدهنية عديدة عـــدم التشبع polyenoic unsaturated fatty acids وهذه الأخيرة تقسم إلى أحمـــاض عديـــدة عدم التشبع غير متبادلة الرابطة الزوجية وأحماض دهنية عديدة عدم التشبع متبادلة الرابطة polyenoic unsaturated conjugated or non-conjugated acids.

وتســـتخدم بعض الرموز التى تعبر عن نوعية الروابط غير المشبعة حـــيث يستخدم الرمز (a) للتعبير عن وجود مجاميع أستيلينية Acetylenic group، والرمـــز (c) للتعبير عن وجود مجاميع سيس للروابط الزوجية cis والرمـــز (t) للتعبيرعن الوضع ترانس فى الروابط الزوجية trans، والرمز (e) للتعبيـــرعن وجـــود مجاميع أيثيلينية Ethylenic group، والرمز (b r) للتعبيـــر عن وجود تفرع فى السلسلة الكربونية Branching، والرمز (ω) أومـــيجا للتعبيـــر عـــن موضع الرابطة الزوجية من جهة مجموعة الميثيل الطـــرفية فى السلسلة الكربونية والرمز (Δ) دلتا للتعبير عن موضع الرابطة الزوجية من جهة مجموعة الكربوكسيل فى السلسلة الكربونية.

جدول (٣٨): تركيب الأحماض الدهنية الرئيسية

Abbreviated designation	Structure*	Common Name	Proportion (%)**
14:0	/\/\/\/\/\/\COOH	Myristic acid	2
16:0	/\/\/\/\/\/\/\COOH	Palmitic acid	11
18:0	/\/\/\/\/\/\/\/\COOH	Stearic acid	4
18:1 (9)	/\/\/\=/\/\/\COOH	Oleic acid	34
18:2 (9,12)	\/\/\=/\=/\/\/\COOH	Linoleic acid	34
18:3 (9,12,15)	/\=/\=/\=/\/\/\COOH	Linolenic acid	5

* Numbering of carbon atoms starts with carboxyl group-C as number I.
** A percentage estimate based on world production of edible oils.

جدول رقم (٣٩): تركيب الأحماض الدهنية المشبعة

Abbreviated designation	Structure	Systematic Name	Common name	Melting point (°C)
A. Even numbered straight chain fatty acids				
4:0	$CH_3(CH_2)_2COOH$	Butanoic acid	Butyric acid	- 7.9
6:0	$CH_3(CH_2)_4COOH$	Hexanoic acid	Caproic acid	- 3.9
8:0	$CH_3(CH_2)_6COOH$	Octanoic acid	Caprylic acid	16.3
10:0	$CH_3(CH_2)_8COOH$	Decanoic acid	Capric acid	31.3
12:0	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	Dodecanoic acid	Lauric acid	44.0
14:0	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	Tetradecanoic acid	Myristic acid	54.4
16:0	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	Hexadecanoic acid	Palmitic acid	62.9
18:0	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	Octadecanoic acid	Stearic acid	69.6
20:0	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	Eicosanoic acid	Arachidic acid	75.4
22:0	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$	Docosanoic acid	Behenic acid	80.0
24:0	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	Tetracosanoic acid	Lignoceric acid	84.2
26:0	$CH_3(CH_2)_{24}COOH$	Hexacosanoic acid	Cerotic acid	87.7
B. Odd numbered straight chain fatty acids				
5:0	$CH_3(CH_2)_3COOH$	Pentanoic acid	Valeric acid	-34.5
7:0	$CH_3(CH_2)_4COOH$	Heptanoic acid	Enanthic acid	7.5
9:0	$CH_3(CH_2)_9COOH$	Nonanoic acid	Pelargonic acid	12.4
15:0	$CH_3(CH_2)_{13}COOH$	Pentadecanoic acid	Pelargonic acid	52.1
17:0	$CH_3(CH_2)_{15}COOH$	Heptadecanoic acid	Margaric acid	61.3
C. Branched chain fatty acids				
		2,6,10,14-Tetra-methyl-penta-decanoic acid	Pristanic acid	
		3,7,11,15-Tetra-methyl-hexa-decanoic acid	Phytanic acid	

جدول رقم (٤٠): تركيب الأحماض الدهنية غير المشبعة

Abbreviated designation	Structure	Common name	Melting point (°C)
A. Even numbered straight chain fatty acids			
	ω9-Family		
18:1(9)	$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH-CH_2-(CH_2)_6-COOH$	Oleic acid	13.4
22:1(13)	$-(CH_2)_{10}-COOH$	Erucic acid	34.7
24:1(15)	$-(CH_2)_{12}-COOH$	Nervonic acid	42.5
	ω6-Family		
18:2(9,12)	$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-(CH_2)_6-COOH$	Linoleic acid	- 5.0
18:3(6,9,12)	$-(CH-CH-CH_2)_3-(CH_2)_3-COOH$	γ-Linolenic acid	
20:4(5,8,11,14)	$-(CH-CH-CH_2)_4-(CH_2)_2-COOH$	Arachidonic acid	-49.5
	ω3-Family		
18:3(9,12,15)	$CH_3-CH_2-(CH-CH-CH_2)_3-(CH_2)_6-COOH$	α-Linolenic acid	-11.0
20:0(5,8,11,14,17)	$-(CH=CH-CH_2)_5-(CH_2)_2-COH$	EPA	
22:6(4,7,10,13,16,19)	$-(CH=CH-CH_2)_6-CH_2-COOH$	DHA	
	Δ9-Family		
18:1(9)	$CH_3-(CH_2)-CH=CH-CH_2-(CH_2)_6-COOH$	Oleic acid	13.4
16:1(9)	$CH_3-(CH_2)_5-$	Palmitoleic acid	. .5
14:1(9)	$CH_3-(CH_2)_3-$	Myristoleic acid	
B. Fatty acids with nonconjugated trans-double bonds			
18:1(tr9)	$CH_3-(CH_2)_7-CH^{tr}=CH-(CH_2)_7-COOH$	Elaidic acid	46
18:2(tr9.tr12)	$CH_3-(CH_2)_4-CH^{tr}=CH-CH_2-CH^{tr}=CH-(CH_3)_7-COOH$	Linolelaidic acid	28
C. Fatty acids with conjugated double bonds			
18:3 (9,tr11,tr1)	$CH_3-(CH_2)_3-CH^{tr}-CH-CH^{tr}=CH-CH^{c}-CH-(CH_2)_7-COOH$	α-Eleostearic acid	48
18:3 (tr9,tr11,tr13)	$CH_3-(CH_2)_3-CH^{tr}-CH-CH^{tr}=CH-CH^{tr}=CH-(CH_2)_7-COOH$	β-Eleostearic acid	71.5
18:4 (9,11,13,15)	$CH_3-CH_2-(CH=CH)_4-(CH_2)_7-COOH$	Parinaric acid	85

جدول رقم (٤١): خواص التذوق للأحماض الدهنية غير المشبعة

Compound	Threshold (mmol/l	Quality
Oleic acid	9-12	Bitter, burning, pungent
Elaidic acid	22	Slightly burning
Linoleic acid	4-6	Bitter, burning, pungent
Linolelaidic acid	11-15	Bitter, burning, scratchy
γ-Linolenic acid	3-6	Bitter, burning, pungent
α-Linolenic acid	0.6-1.2	Bitter, burning, pungent, like fresh walnut
Arachidonic acid	6-8	Bitter, repugnant off-taste

المصدر: Belitz and Grosch (1999)

جدول (٤٢): تركيب الاحماض الدهنية في بعض الزيوت والدهون والليبيدات الحيوانية

Fatty acids	Plant fats and oils										Animal fats			
	Oils						Fats			s milk butter	Body fat			Whole oil
	Olive	Peanut	Soya	Rape Cla-ssic	Rape New	Luc-Erne	Plam	Copra	Cocoa		Beef	Pork	Man	
1. Saturated														
C_4 to C_{10} [a]	-	-	-	-	-	-	8	15	-	9	-	–	-	-
C_{12} lauric	-	-	-	-	-	-	50	46	-	3	-	12	-	-
C_{14} myristic	1	-	-	-	-	2	15	18	-	10	-	14	3	5
C_{16} palmitic	10	8	9	3.5	5	22	8	9	24	30	13	6	24	15
C_{18} stearic	2	4	3	1.5	2	1	2	3	34	10	65	10	8	1
Others	1	6	-	-	-	2	-	-	2	2	1	2	-	1
(Total saturated)	(14)	(18)	(12)	(5)	(7)	(27)	(83)	(91)	(60)	(64)	(79)	(44)	(35)	(22)
2. Unsaturated														
$C_{16:1}$ Δ9 palmitoleic	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	2	-	–	5	15
$C_{18:1}$ Δ9 oleic	75	57	33	25	55	5	15	8	38	30	20	43	47	36
$C_{18:2}$ Δ9. 12 linoleic	8	25	48	19	20	20	1	1	-	2	-	10	10	-
$C_{18:3}$ Δ9,12,15 Linolenic	-	-	6.5	3	8	48	-	-	-	-	-	-	-	-
$C_{20:4}$ Δ9.8.11.14 Arachidonic	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14
Others	3	-	-	-[b]	10	-	-	-	2	2	1	3	3	13[c]
(Total unsaturated)	(86)	(82)	(88)	(95)	(93)	(73)	(16)	(9)	(40)	(36)	(21)	(56)	(65)	(78)

المصدر: ALAIS and LINDEN (1991)

a : Butyric acids: C_4-butyric, C_6-caproic, C_8-caprylic. C_{10}-capric.

b : Erucic acid, $C_{22:1}$ Δ13.

c : Of which 8% is clupanodonic acid $C_{22:5}$.

وفـــيما يلـــى أمثلة لبعض الأحماض الدهنية التى تتواجد فى الزيوت والدهون وتحتوى على مجاميع وظيفية مختلفة Functional group مثل:

1- $CH_3 (CH_2)_4\text{-}C \equiv C\text{-}CH_2\text{-}CH = CH(CH_2)_7\text{-}COOH$

Crepenynic acid [acetylenic group]

2- $CH_3 (CH_2)_{10}\text{-}CH = C = CH\text{-}(CH_2)_3\text{-}COOH$

Laballenic acid [allenic group]

3- $CH_3\text{-}CH\text{-}(CH_2)_n\text{-}COOH$ (with CH_3 on the CH)

iso acids (mainly even)

$CH_3\text{-}CH_2\text{-}CH\text{-}(CH_2)_n\text{-}COOH$ (with CH_3 on the CH)

anteiso acids (mainly odd)

$CH_3\text{-}(CH_2)_n\text{-}CH\text{-}CH_2\text{-}CH\text{-}CH_2\text{-}CH\text{-}COOH$ (with CH_3 on each CH)

2,4,6-trimethylalkanoic acids [branched groups]

4- $CH_3\text{-}(CH_2)_7\text{-}C = C\text{-}(CH_2)_n\text{-}COOH$ (CH_2 bridging the two C atoms) [with ring system]

n = 6 malvalic acid

or n = 7 sterculic acid

$CH_3\text{-}(CH_2)_5 - CH - CH - (CH_2)_9 - COOH$ (CH_2 bridging the two CH)

Lactobacillic acid

5- $CH_3 \text{-}(CH_2)_5 - CH - CH_2 - CH = CH \text{-}(CH_2)_7 - COOH$ (OH on the first CH)

ricinoleic acid [hydroxylic group]

$CH_3 - (CH_2)_4\text{-}CH = CH \text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-} CH - (CH_2)_7 - COOH$ (OH on the last CH)

isoricinoleic acid

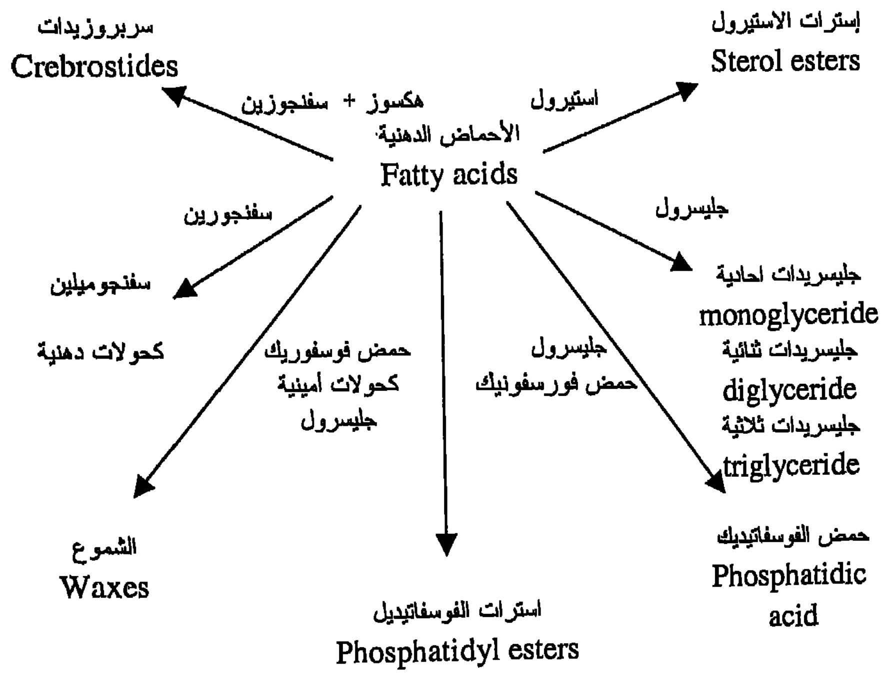
6- $CH_3\text{-}(CH_2)_4 - CH - CH - CH_2 - CH = CH - (CH_2)_7 - COOH$ (O bridging the first two CH)

vernolic acid [epoxy group]

$CH_3\text{-}(CH_2)_4 - CH = CH - CH_2 - CH - CH - (CH_2)_7 - COOH$ (O bridging the CH - CH)

Coronaric acid

وتعتبــر الأحمــاض الدهنــية هى الوحدة البنائية فى معظم مكونات الزيوت والدهون مثل الجليسريدات الأحادية monoglyceride والجليسريدات الثنائــية Diglyceride والجلســريدات الثلاثــية Triglyceride وأســترات الاســتيرول Sterol esters وأســترات الفوسفاتيديل Phosphatidyl esters والســفنجوميلين sphingomylin والسربروزيدات Cerebrosides والشموع waxes، ويوضــح الشــكل التالــى العلاقة بين الأحماض الدهنية ومكونات الليبيدات المختلفة:



بعض الخواص الطبيعية والكيماوية للأحماض الدهنية
Physical and Chemical Properties of Fatty Acids

(١) نقطة الانصهار Melting point

نقطـة الانصهار صفة مهمة سواء للأحماض الدهنية أو الجليسريدات ويجب أن يراعى ما يلي:

أ – تـزداد نقطـة الانصهار فى الأحماض الدهنية المشبعة بزيادة طول السلسـلة وترجع هذه الخاصية إلى الخواص الطبيعية للمركبات الطويلة السلسـلة فـى حالـتها الصلبة والتى ترتبط بترتيب الجزيئات، وتكون الزيادة بمعدل ٦,٥، ٩,٥م لكل إضافة بذرتين كربون فى السلسلة وعلى سـبيل المثال فإن نقطة الانصهار لحمض اللوريك Lauric (C_{12}) تكون ٤٤,٣م وفـى حمـض الميرستيك myristic (C_{14}) تكون ٥٣,٩م وفى حمـض البالمتـيك palmetic (C_{16}) تكـون ٦٣,١م وفـى حمـض الاسـتياريك stearic (C_{18}) تكـون ٦٩,٦م وفـى حمض الأراكيدونيك arachidonic (C_{20}) تكون نقطة الانصهار ٧٦,٥م.

ب – فى الأحماض الدهنية غير المشبعة وفى حالة تساوى عدد ذرات الكربون فى السلسلة الكربونية فإن نقطة الانصهار تنخفض مع زيادة عدد الروابط الـزوجية فى السلسلة، ويزداد الانخفاض فى حالة الأحماض الدهنية من النوع cis بدرجة أكبر من الأحماض الدهنية من نوع trans وعلى سبيل المثال فى مجموعة الأحماض الدهنية C_{18} فلإن نقطة الانصهار للحمض الدهنـى الاستياريك $C_{18:0}$ تكون ٦٩,٦م بينما فى حالة حمض الفاسينيك تـرانس Vaccenic trans $C_{18:1t}$ تكون ٤٤م وبالنسبة للحمض الدهنى أوليك سيس oleic cis $C_{18:1cis}$ تكون ١٣,٤م واللينولنيك سيس Linoleic cis $C_{18:2cis}$ تكـون -٥م وبالنسـبة للحمض الدهنى اللينولينيك سيس linolenic cis $C_{18:3c}$ تكون -١١م جدول (٤٣).

جـ - تؤثر عملية الاستبدال للمجاميع على السلسلة الكربونية على نقطة الانصهار وذلك تبعا لطبيعة الاستبدال وموضعه على السلسلة، فتنصهر الاسترات المثيلية عند درجة حرارة أقل من الأحماض العادية التى لها نفس الوزن الجزيئي، وتكون درجة الانصهار أقل ما يمكن عندما يكون الاستبدال الميثلى قريباً جدا من منتصف السلسلة كما تنخفض درجة الانصهار فى الأحماض anteiso عن الأحماض العادية أو الأحماض iso بينما تزداد درجة الانصهار بإدخال مجاميع أيدروكسيد أو كيتونية لوجود قوى قطبية تعمل على التصاق السلاسل.

د - تعتمد درجة الانصهار فى الأحماض الدهنية غير المشبعة على طبيعة المجموعة غير المشبعة وعددها، وكذلك التركيب الفراغى والموضع النسبي، وعلى ذلك تنصهر مجموعة الأحماض التى لها نفس طول السلسلة طبقا للترتيب التالي:

الأحماض المشبعة Saturated acids > الأحماض الاسيتيلينية Acetylenic acid > الأحماض الاوليفينية Olefinic transترانس

V

الأحماض الاوليفينية Olefinic cisسيس

V

الأحماض غير المشبغة غير المتبادلة Unconjugated acids > الأحماض غير المشبعة المتبادلة Conjugated acids

هـ - فى حالة متشابهات الأحماض الدهنية ذات الرابطة الزوجية الواحدة فإن نقطة الانصهار تقل كلما تحركت الرابطة الزوجية من أحد طرفى السلسلة إلى المنتصف، وبالتالى فإنه فى حالة عملية الهدرجة للزيوت لتحويلها إلى دهون نصف صلبة والتى ينتج عنها تحويل بعض المشابهات cis إلى trans وتحرك الروابط الزوجية فى النظام غير المشبع الغير متبادل إلى النظام المتبادل يكون ذلك مصحوبا بارتفاع فى درجة الانصهار.

جدول رقم (٤٣): تأثير تركيب الأحماض الدهنية على نقطة الانصهار

Fatty acid		Melting point (^oC)
18:0	Stearic acid	69.6
18:1 (tr9)	Elaidic acid	46
18:1 (2)	cis-2-Octadecenoic acid	51
18:1 (9)	Oleic acid	13.4
18:2 (9, 12)	Linoleic acid	-5
18:2 (tr9, tr12)	Linolelaidic acid	28
18:3 (9, 12, 15)	α-Linolenic acid	-11
20:0	Arachidic acid	75.4
20:4 (5, 8, 11, 14)	Arachidonic acid	-49.5

المصدر: Belitz and Grosch (1999)

(٢) الذوبان Solubility

تذوب الأحماض الدهنية المحتوية على سلسلة اكثر من ٦ ذرات كربون بقلة فى الماء، ولكن نظرا لوجود مجموعة الكربوكسيل المحبة للماء فإن هذه الأحماض تذوب بدرجة أكبر من مثيلتيها الهيدروكربونات، وتقل درجة الذوبان بزيادة طول السلسلة وعندما تنتشر الدهون القطبية فقط فى الماء فإنها تميل إلى توجيه نفسها بحيث ترتبط المجاميع القطبية مع الماء، ويمكن الإشارة الى أن درجة الذوبان فى المذيبات العضوية تقل أيضا بزيادة طول السلسلة وتظهر الأحماض الدهنية ذات العدد الفردى والزوجى من ذرات الكربون بما يسمى بظاهرة التعاقب Alternation أى تقل درجة الذوبان باستمرار مع زيادة طول السلسلة.

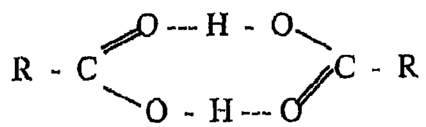
ومن جهة أخرى تختلف درجة الذوبان باختلاف نوع المذيب العضوى ويستخدم الاختلاف فى الذوبان عند درجات حرارة مختلفة للأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة كأساس فى عملية البللورة عند درجة الحرارة المنخفضة، كما تزداد درجة القابلية للذوبان فى المذيبات العضوية بزيادة درجة عدم التشبع، وفى الوضع cis.

(٣) امتصاص الأشعة البنفسجية UV-absorption

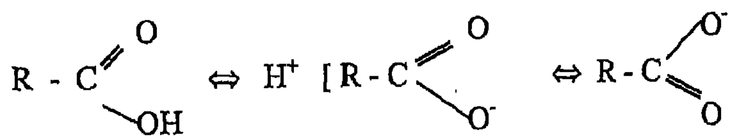
تمــتص الأحمــاض الدهنية غير المشبعة فى الوضع cis الأشعة فوق البنفســجية عند طول موجى ١٩٠ نانوميتراً وتمتص الأحماض الدهنية غير المشبعة المتبادلة الأشعة على أطوال موجية مختلفة اعتمادا على عدد ووضع الروابط الزوجية.

(٤) خواص مجموعة الكربوكسيل Carboxyl group

تمــيل الأحمــاض الكربوكسيلية لتكوين جزئيات ثنائية dimer الناشئة عن الارتباط بالروابط الهيدروجينية hydrogen bonds، وتبلغ طاقة الاتحاد فى هذا التفاعل ٣٨ كيلوجول / مول كما أن الخاصية الحامضية تعتمد على تحرر البروتون وتكوين الشقوق الكربوكسيلية الانيونية.



dimer



anionic carboxylic fractions

(٥) التركيب القطبى Polar structure

يكــون التركيب قطبيا فى حالة وجود مجموعة الكربوكسيل بينما تكون السلسلة الكربونية غير محبة للماء hydrophobic ويجب الملاحظة أن الطبيعة أو الصــفة الكارهــة للمـــاء تزداد مع زيادة طول السلسلة، كما أن مجموعة الكربوكسيل يقل تحللها أو تفككها مع زيادة طول السلسلة الكربونية أيضا.

والأحماض الدهنية قصيرة السلسلة مثل البيوتريك C_4 butyric وحتى الأحمــاض الدهنــية ذات سلســلة كربونية C_{14} تسمى بالأحماض الطيارة

وبيـــنما تـــذوب الأحمـــاض C_6-C_4 Volatile acids فقـــط فى الماء فإن الأحمـــاض الأخرى تكون غير قابلة للذوبان فى الماء أى تظهر فيها خاصية hydrophobic ويتميـــز دهن اللبن وليبيدات نوى النخيل palm kernel ولب جوز الهند copra بارتفاع محتواها من الأحماض القصيرة السلسلة وتتراوح نقطة الانصهار لها بين ٢٥-٣٥م .

(٦) ميثلة مجموعة الكربوكسيل Methylation of carboxyl

بإجـــراء عملـــية الميثلة لمجموعة الكربوكسيل فى الأحماض الدهنية تختفـــى الخواص القطبية depolaraized ويتكون استرات الأحماض الدهنية والتـــى تكون على حالة متطايرة volatile state وبالتالى يسهل عملية فصل هذه الأحماض بواسطة جهاز التحليل الكربوماتوجرافى الغازى gas liquid chromatography أو طرق التقطير الجزئى fractional distillation.

وتوجد عدة طرق لإجراء عملية الميثلة مثل:

١- طريقة الصوديوم ميثيوكسيد Sodium methoxide

٢- طريقة البورون تراى فلوريد Boron triflouride

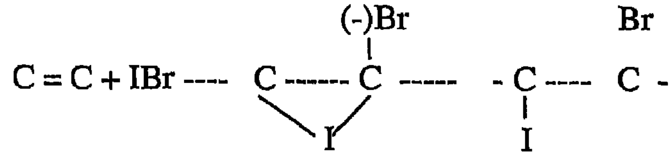
٣- طريقة الدايازو ميثان Diazomethane

وتعتبـــر طريقة الدايازوميثان من أسرع الطرق لإجراء عملية الميثلة ويـــتكون الدايازوميثان بالتحليل القاعدى لمركب N-nitroso-N-methyl-p-toluene sulfonamide ويتفاعل الغاز الناتج CH_2N_2 مع الأحماض الدهنية الذائبة فى مخلوط الإيثير والميثانول ٩: ١ حسب المعادلة التالية:

$$R\text{-}COOH + CH_2N_2 \xrightarrow{CH_3OH} R\text{-}COOCH_3 + N_2 \uparrow$$

(٧) تفاعل اليود Iodine reaction

يتفاعل اليود بالإضافة مع الرابطة الزوجية وبالتالى يمكن بذلك تقدير عدد الروابط الزوجية فى الزيت أو الدهن، وتعتبر طريقة wijs أكثر الطرق اســـتخداما فى هذا المجال وجوهر كشافها هو محلول اليود أحادى Iodine monochloride فى حمض الخليك الذى يتفاعل كميا مع المجاميع الأوليفينية



(٨) التفاعل مع أيونات الفضة Reactions with Ag+ ions

يمكن فصل الأحماض الدهنية غير المشبعة واستراتها كذلك الألدهيدات غيـــر المشـــبعة الـــناتجة عن عملية الأكسدة للأحماض الدهنية أو الليبيدات. ويعتمد الفصل على عدد وشكل ووضع الروابط الزوجية كما يتكون معقد من أيـــونات الفضة مع الرابطة الزوجية، ويزداد ثبات المعقد المتكون مع زيادة عدد الروابط الزوجية بما يعنى أن الحمضى الدهنى ذا الرابطتين الزوجيتين cis لا يتحـــرك على طبقة الـــ Thin layer للتحليل الكروماتوجرافى بنفس الدرجة لتحرك الحمض الدهنى ذى الرابطة الزوجية الواحدة، وعلى ذلك فإن قيمة R_f تكون فى الاتجاه المتناقص التالي:

$$C_{18:2}(9,12) < C_{18:1}(9) < C_{18:0}$$ ...... إلخ

وتكون الروابط الزوجية معقداً مع أيون الفضة وبدرجة أكبر فى حالة cis عن حالة الأحماض ذات الروابط على صورة Trans، كما يكون المعقد أكثـــر ثباتا عندما تكون الرابطة الزوجية قريبة من نهاية السلسلة الكربونية، وبالتالـــى فـــإن هذه الطريقة تستخدم فى فصل الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع المتبادل عن تلك عديدة عدم التشبع غير المتبادلة.

(٩) الهدرجة Hydrogenation

يتفاعل الهيدروجين مع الرابطة الزوجية تفاعل إضافة فى وجود عامل مســـاعد catalys مـــثل النـــيكل، وتحدث هدرجة اختيارية للروابط الزوجية وتـــتكون المشـــابهات، ويحـــدث هجـــرة للروابط الزوجية وتتحول صورة الأحماض من غير المتبادلة unconjugate إلى المتبادل conjugate ويمكن التحكم فى عملية الهدرجة لإنتاج منتجات مختلفة فى نقطة الانصهار والقوام وتصلح لمجالات مختلفة فى التصنيع الغذائي.

(١٠) تفاعلات التحليل المائى Hydrolysis reactions

تــوجد الأحمـــاض الدهنـــية أساســـا علـــى هيئة إسترات الجليسرول Glycerol esters وأيضا إسترات جليسروفوسفوريك Glycerophosphoric esters وبالتالى يعتبر التحليل المائى خطوة مهمة لتحضير الأحماض الدهنية واملاحها ويتم ذلك بالقلوى أو الماء المحتوى على أحماض كعوامل مساعدة أو بواسطة التحليل الإنزيمى Enzymatic hydrolysis.

وفـــى حالـــة التحليل المائى الحامضى Acid hydrolysis يعمل أيون الأيدروجـــين كعامـــل مســـاعد علـــى التحلـــيل وينـــتج الاحماض الدهنية والجليسرول.

$$
\begin{array}{lcl}
CH_2\text{-}OOCR & & CH_2OH \\
CH\text{-}OOCR \;+ HOH & \Leftrightarrow & CHOH + 3\,R - COOH \\
CH_2\text{-}OOCR & & CH_2OH \\
\text{Triglyceride} & & \text{Glycerol} \quad \text{Fatty acids}
\end{array}
$$

بيـــنما فـــى حالة التحليل المائى القاعـــدى Akali hydrolysis حيث يســـتعمل محلول أيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم كعامل مساعد، ويحدث كســـر وتحليل للرابطة الاستيرية فتنفرد الأحماض الدهنية. التى تتفاعل مع أيدروكســـيد الصـــوديوم يتكون املاح الصوديوم للأحماض الدهنية وبالتالى يكـــون التحليل المائى للزيت أو الدهن تحليلا كاملا، ويستفاد من هذا التفاعل فى صناعة الصابون.

$$
\begin{array}{lcl}
CH_2\text{-}OOCR & & CH_2OH \\
CH\text{-}OOCR \;+ NaOH & \Leftrightarrow & CHOH \;+\; R - COONa \\
CH_2\text{-}OOCR & & CH_2OH \\
\text{Triglyceride} & & \text{Glycerol} \quad \text{Fatty acid sodium salt}
\end{array}
$$

وفـــى حالـــة التحليل المائى الإنزيمى فهذا يحدث فى العمليات الحيوية بواســـطة إنزيم الليبيز lipase ويسمى التحليل الليبيدى lipolysis وينتج عن ذلك أحماض دهنية وجليسرول.

$$
\begin{array}{lcll}
CH_2-OOCR_1 & & R_1-COOH & CH_2OH \\
| & H_2O & & | \\
CH-OOCR_2 & \xrightarrow[\text{lipase}]{} & R_3-COOH \;+ & CH-OOCR_2 \\
| & & & | \\
CH_2-OOCR_3 & & + & CH_2OH
\end{array}
$$

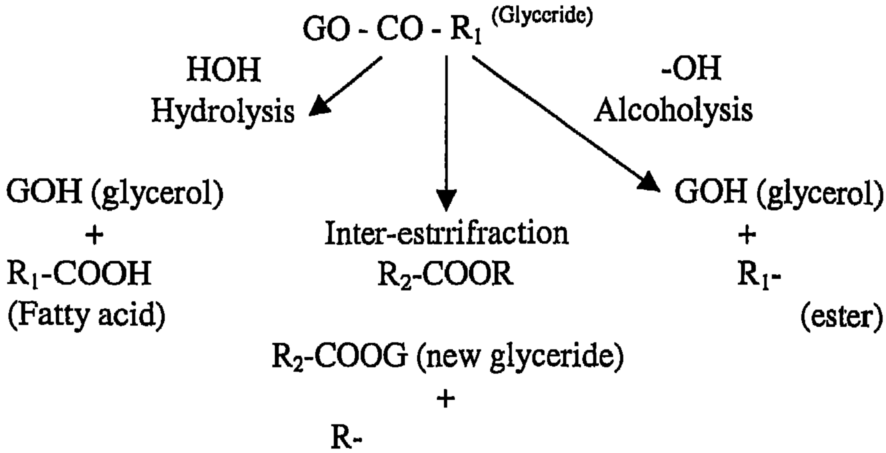
Triglyceride — Fatty acids — B-monoglyceride

ويحــدث تحليل للجليسريدات بواسطة الأحماض العضوية نتيجة تبادل مزدوج لمجموعات الأسيل فتتكون استرات الجليسرول مع الحمض العضوى ويتم هذا التفاعل فى وجود صوديوم ميثوكسيد أو صوديوم أيثوكسيد كعوامل مســاعدة للــتفاعل مــع التســخين، ويسمى هذا التحليل بالتحليل الحامضى Acidolysis

$$
\begin{array}{l}
CH_2-OOCR \\
CH-OOCR \\
CH_2-OOCR
\end{array}
+ CH_3-COOH \xrightarrow{CH_3-ONa}
\begin{array}{l}
CH_2OOC-CH_3 \\
CH-OOC-CH3 \\
CH_2OOC-CH_3
\end{array}
+ R-COOH
$$

وقــد يحدث تحويل للإسترات الجليسريدية إلى إستر آخر بالتفاعل مع الكحــول فى وجود عامل مساعد مناسب Alcoholysis وبالتالى يستفاد من هــذا التفاعل فى تغيير خواص الليبيدات الطبيعية بتغيير التركيب الكيميائى بالنســبة لنوعــية الأحماض الدهنية فى الإسترات. ويسمى هذا التفاعل بـــ Interesterification.

وفــى تفاعــل التحلــيل الكحولــى Alcoholysis يحول التفاعل بين الجليســريد مــع كحــول الميثانول ويسمى التفاعل Methanolysis لتكوين إســترات الميثيل methyl esters أو مع الجليسرول Glycerolysis لتكوين جليســريدات جزيئية Partial glycerides وهذا التفاعل الأخير يستخدم فى تصنيع الجليسريدات الثنائية أو الأحادية وفى صناعة المنظفات الصناعية.



حيث G = الجليسرول، R_1 , R_2 = مجموعة اسيل، R , R = مجموعة الكيل

تفاعلات الرابطة الإسترية

(١١) الأكسدة Oxidation

تتأكســد الأحمــاض الدهنــية غيــر المشبعة وإستراتها بواسطة المواد الكــيماوية المؤكســدة مــثل حمض النيتريك وحمض الكروميك وبرمنجنات البوتاســيوم وفوق أكسيد الهيدروجين والأوزون وفوق الأحماض مثل حمض فــوق الفورمــيك وفــوق الخليك، كما تتفاعل الأحماض الدهنية غير المشبعة وإســتراتها مــع الأكسوجين فى وجود الماء أو مع فوق أكسيد الهيدروجين أو برمنجنات البوتاسيوم وتتكون أحماض هيدروكسيلية، وتحت ظروف الأكسدة الشــديدة يحدث تكسير للرابطة الزوجية وتتكون أحماض عضوية ويستفاد من ذلــك فــى دراسة موضع الرابطة فى الحمض الدهني، كما تتم عملية الاكسدة الهوائــية بواسطة الأكسوجين الجوى فى وجود الضوء كعامل مساعد، وتؤدى الحــرارة وارتفاعهــا إلى زيادة معدل تفاعل الأكسدة وتسمى الأكسدة الهوائية بالاكســدة الذاتــية Autoxidation ولهــا أهمية فى ظهور التزنخ rancidity والــروائح غيــر المقــبولة للدهون والزيوت الغذائية، كذلك تكون بوليمرات الزيوت عالية عدم التشبع المسماة بالزيوت الجافة drying oils.

وفــى الأكســدة الذاتــية يتكون الهيدروبيروكسيد Hydroperoxides لمجمــوعة الميثيلــين المجــاورة للمركز غير المشبع عن طريق سلسلة من التفاعلات، وتتلخص ميكانيكية عملية الأكسدة فى ثلاث خطوات:

(١) خطة البداية Initiation وهى مرحلة تكوين الشقوق الحرة R^{o}، ROO^{o}.

(٢) مــرحلة الاستمرار propagation حيث تمتص الشقوق الحرة وتتكون الهيدروبيروكسيدات وشقوق حرة جديدة.

(٣) مــرحلة الــنهاية Termination حــيث تــتفاعل الشــقوق الحــرة والهيدروبيروكســيدات ثم تتكسر وتكون فى النهاية نواتج الأكسدة وهى الألدهيدات والكينوتات.

وبصفة عامة يقسم التزنخ إلى نوعين: الأول تزنخ أكسيدى oxidative rancidity حــيث تتأكســد الأحمــاض الدهنية غير المشبعة بفعل أكسوجين الهــواء الجــوى وتتكون الهيدروبيروكسيدات التى تتكسر وتنتج الألدهيدات والكيتونات المسئولة عن إعطاء الطعم والرائحة غير المقبولة.

والــنوع الثانى من التزنخ هو التزنخ التحللى Hydrolytic rancidity وهــنا يحــدث تحلل إنزيمى وتنفرد الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة التى تمتاز بالرائحة غير المقبول.

وجديــر بالذكر فإن العوامل التى تساعد على إسراع تفاعلات الأكسدة تسمى Pro-oxidants وهذه تشمل الحرارة – الضوء – الإشعاعات المتأنية – البيروكسيدات – إنزيم الليبيز – العوامل المؤكسدة العضوية المحتوية على حديد مثل الهيموجلوبين – العناصر المعدنية مثل الحديد Fe والنحاس Cu.

بينما تسمى المواد التى لها تأثير معاكس وتؤخر عملية الأكسدة وتؤخر ظهــور التزنخ عن طريق استقبالها للاكيلات الحرة وتوقف خطوة الانتشار propagation وتسمى هذه العوامل بالمواد المضادة للأكسدة antioxidants وتشــمل الحفــظ فى التبريد – الحفظ فى أوعية معتمة للضوء التخلص من الأكسوجين – التبييض – إضافة مواد كيماوية مضادة للاكسدة سواء طبيعية (توكوفيرولات) أو صناعية (BHT) – إضافة مواد تمنع نشاط المعادن.

شكل تخطيطى لميكانيكية الأكسدة فى الزيوت والدهون

INITIATION

```
        H                                   H
[ *** C-C-C=C-C ***]      -H*        [***C-C-C=C***]
        H                                   *
Original molecule         Proton      Fat free radical
```

PROPAGATION

```
      H                                     H
[***C-C-C=C-C***]        +O2→        [***C-C-C=C***]
                                            O
                                            O peroxy
                                            *  radical


      H                                H
[***C-C-C=C-C***]          +      [***C-C-C=C-C***]→
      O                                H
      O
      *


      H                                H
[***C-C-C=C-C***]          +      [***C-C-C=C-C***]→
      O                                *
      O
      H  Hydroperoxide                 Free radical
```

TERMINATION

```
          H                                         H
AH+[***(C-C-C=C-C***]      →A* +          [***C-C-C=C***]
          *                                         H
 Anti          Free        Anti oxidant    Original molecule
 oxidant       Radical     radical
```

وتشـــمل المواد المضادة للأكسدة الشائعة الاستعمال المركبات الفينولية phenolic compounds مـــثل مـــركبات بيتوليـــتد هيدروكســـى تولـــوين Butylated hydroxy toluene (BHT)، بيتوليـــتد هيدروكســـى أنيســـول Butylated hydroxy anisol (BHA)، تيرتيتـــى بيوتـــيل هيدروكيـــنون Tertiary butylhydroquinon (TBHQ)، كمـــا أن هناك مركبات كيماوية تســـتخدم وتضـــاف لتزيد من فعالية مادة مضادة الأكسدة وذلك مثل حمض الســـتريك citric acid ضـــد تفاعلات الأكسدة الإنزيمية، فى حين أن هناك مـــركبات أخرى تضاف فى الأغذية لعدة أغراض مثل ثانى أكسيد الكبريت sulfure dioxide (SO_2) حـــيث تقوم كعامل حفظ وكمادة مضادة للأكسدة، كمـــا أن هـــناك المستخلصات الطبيعية لمواد النكهة مثل مستخلصات نبات حصـــى اللـــبان rosemary extracts ومستخلصـــات دخان الخشب wood smoke extracts والتـــى لها تأثير مثبط للأكسدة وقد قامت الأبحاث الحديثة بدراسة تأثير بعض المركبات الأخرى مثل زيت جنين الأرز rice bran oil والمـــركبات الفينولية القابلة للذوبان فى الماء أو الدهون water soluble or fat soluble polyphenolic مـــثل الـــــ catechins التـــى توجد فى الشاى الأخضـــر. ولقد زاد الاهتمام بتأثيرات مضادات الأكسدة وفوائدها التغذوية أو الصحية.

وينـــتج عن عمليات أكسدة الليبيدات مركبات الدهيدية وكيتونيه تسبب تغيـــر فى النكهة والرائحة للمنتج الغذائي، والجدول رقم (٤٤) يوضح أنواع هـــذه المـــركبات التى تنتج من أكسدة أحماض الأوليك واللينوليك واللينولنيك وتركيزها.

REACTION MECHANISM

** Initiation*

Primary RH $\rightarrow$ R. + H.

alkyl radical

$_2 \rightarrow$ ROO. + H.

peroxy radical

$RH + M^{+n} \rightarrow R. + H^{+} + M^{+(n-1)}$

Secondary ROOH $\rightarrow$ RO. +. OH

alkoxy radical

$ROOH \rightarrow R. + HO_2.$

$ROOH + M^{+n} \rightarrow ROO. + H^{+} + M^{+(n-1)}$

metal

$ROOH + M^{+(n-1)} \rightarrow RO. + OH^{-} + M^{+n}$

M^{+n}

$ROOH + ROOH \rightarrow ROOH \rightarrow ROO. + RO. + H_2O$

HOOR

hydrogen bond

** Propagation*

$\rightarrow \quad R_1. + O_2 \rightarrow R_1OO.$

$R_1OO. + R_2H \rightarrow R_1OOH + R_2.$

** Termination*

ROO. + ROO. $\rightarrow$

ROO. + R. $\rightarrow$ non-radical components

R. + R. $\rightarrow$

شكل (١٤): الميكانيكية العامة لتفاعلات الأكسدة فى الليبيدات

جــدول رقــم (٤٤): المــركبات الطــيارة المتكونة من أكسدة الأحماض الدهنية مقدرة ميكروجرام لكل جرام زيت

Oleic acid		*Linoleic acid*		*Linolenic acid*	
Heptanal	50	Pentane	+	Propanal	
Octanal	320	Pentanal	55	1-Penten-3-one	30
Nonanal	370	Hexanal	5,100	2tr-Butenal	10
Decanal	80	Heptanal	50	2tr-Pentenal	35
2tr-Decenal	70	2tr-Heptenal	450	2c-Pentenal	45
2tr-Undecenal	85	Octanal	45	2tr-Hexenal	10
		1-Octen-3-one	2	3tr-Hexenal	15
		1-Octen-3-hydro-peroxide	+	3c-Hexenal	90
		2c-Octenal	990	2tr-Heptenal	5
		2tr-Octenal	420	2tr,4c-Heptadienal	320
		3c-Nonenal	30	2tr,4tr-Heptadienal	70
		3tr-Nonenal	30	2c,5c-Octadienal	20
		2c-Nonenal	+	3,5-Octadien-2-one	30
		2tr-Nonenal	30	2tr,6c-Nonadienal	10
		2c-Decenal	20	2,4,7-Decatrienal	85
		2tr,4tr-Nonadienal	30	1,5c-Octadien-3-one	+
		2tr,4c-Decadienal	250	1,5c-Octadien-3-hyd-roperoxide	+
		2tr,4tr-Decadienal	150		
		Trans-4,5-Epoxy-2tr decenal	+		

المصدر: Belitz and Grosch (1999)

جدول رقم (٤٥): الخواص الحسية لمركبات الرائحة المتكونة من أكسدة الليبيدات

Compound	Flavor quality	Odor threshold (ug/kg) in oil		Water nasal
		Nasal	Retronasal	
Aldehydes				
5:0	pungent,like bitter almonds	240	190	18
6:0	tallowy,green leafy	320	75	12
7:0	oily, fatty	3,200	50	5
8:0	oily, fatty, soapy	320	50	0.8
9:0	tallowy,soapy-fruity	13,500	260	5
10:0	orange peel like	6,700	850	5
5:1(2tr)	pungent, apple	2,300	600	-
6:1(2tr)	Apple	10,000	400	50
6:1(3c)	green, leafy	14	3	0.25
7:1(2tr)	fatty,bitter almond	14,000	400	51
7:1(4c)	cream, putty	2	1	0.8
8:1(2c)	Walnut	-	50	-
8:1(2tr)	fatty, nuty	7,000	125	4
9:1(2c)	fatty,green leafy	4.5	0.6	0.02
9:1(2tr)	tallowy,cucumber	900	65	0.8
9:1(3c)	Cucumber	250	35	-
10:1(2tr)	tallowy, orange	33,800	150	-
7:2(2tr,4c)	frying odor, tallowy	4,000	50	-
7:2(2tr,4tr)	fatty, oily	10,000	30	-
9:2(2tr,4tr)	fatty, oily	2,500	460	-
9:2(2tr,6c)	like cucumber	4	1.5	-
10:2(2tr,4c)	frying odor	10	-	-
10:2(2tr,4tr)	frying odor	180	40	0.2
10:3(2tr,4c,7c)	cut beans	-	24	-
trans,4,5-Epoxy-2tr-decenal	Metallic	1.3	3	0.12
Ketones				
1-Penten-3-one	hot, fishy	0.7	3	1.3
1-Octen-3-one`	like mushrooms, fishy	10	0.3	1
1,5c-Octadien-3-one	like geraniums, metallic	0.45	0.03	1.2×10^{-3}
3tr,5tr-Octadien-3-one	fatty, fruity	300	-	-
3tr,5c-Octadien-2-one	fatty, fruity	200	-	-
3-Methyl-2,4-nonanedione	like straw, fruity, like butter	23	1.5	0.03
Miscellaneous compounds				
1-Octen-3-hydroperoxide	Metallic	240	-	-
2-Pentylfuran	like butter,like green beans	2,000	-	-

المصدر: Belitz and Grosch (1999)

(١٢) البلمرة Polymerization

عند تسخين الزيوت لعدة ساعات تزداد لزوجتها ببطء فى بادئ الأمر ثـم تزداد بسرعة لتعطى سائلاً ثقيل القوام ويصحب هذا التغير انخفاض فى قـيمة الرقم اليودى وزيادة كل من الكثافة ومعامل الانكسار ومتوسط الوزن الجزيئى ومحتوى الأحماض الدهنية عالية عدم التشبع ذات الروابط الزوجية فـى الوضع المتبادل conjugated وتزداد أيضا نسبة الروابط غير المشبعة فى الوضع المخالف trans.

وتـزداد سـرعة البلمـرة فى وجود الهواء حيث تلعب الأكسدة دوراً رئيسياً فى أسراع التفاعل - كما أن البلمرة تحدث تحت تأثير وجود الشقوق الحرة والعوامل المساعدة القطبية حيث تتكون رابطة بين ذرتى كربون سواء بين اسيل الحمض الدهنى فى جزيء الجليسريد الواحد وتكوين حلقات أحادية أو بين اسيل الحمض الدهنى فى الجليسريدات المختلفة حيث تتكون مركبات Dimer كمـا يحـدث تحول فراغى للروابط الزوجية إلى الوضع المتبادل، وتحدث البلمرة بتفاعل ديلز - الدر.

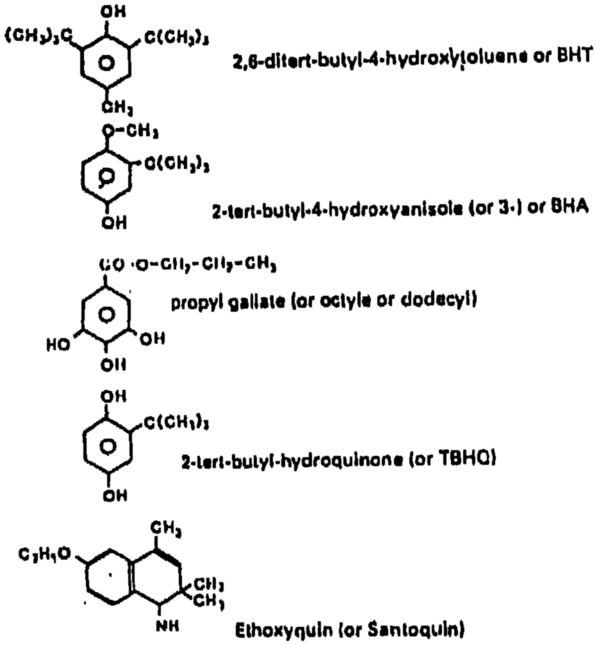
وعـند تسخين الزيوت بدون إضافة أغذية فإنه نتيجة للحرارة العالية تحـدث تفاعلات الأكسدة الذاتية Autoxidation والبلمرة وتغيير المشابهات Isomerization وينـتج عـن هذه التفاعلات أحماض ضارة - أيبوكسيد - مركبات حلقية - الدهيدات - إسترات - كحولات (جدول ٤٦، ٤٧).

وعـنـد تسـخين الزيوت مع إضافة المواد الغذائية تحدث التفاعلات السـابقة بالإضـافة الـى الـتحلل للمواد الناتجة، وتنفرد بالإضافة لما سبق أحماض دهنية حرة وجليسرول وجليسريدات أحادية وثنائية.

الجليسريدات:

تعتبـر الجليسـريدات المكـون الرئيسى للزيوت والدهون وتتكون من جليسـرول مع الأحماض الدهنية فى صورة استر تسمى إسترات الجليسرول glycerol esters وإذا ارتبط جزيء الجليسرول مع جزيء حمض دهنى واحد فإنـه يتكون الجليسريد الأحادى monoglyceride وقد يكون ارتباط الحمض

الدهنـــى فى الذرة الأولى للجليسرول فيسمى الجليسريد الفامونوجليسريد، وقد يكون الارتباط فى الذرة الثانية يسمى بيتامونوجليسريد.



Synthetic antioxidants.

شكل (١٥): التركيب البنائي للمواد المضادة للاكسدة

جدول رقم (٤٦): التفاعلات التى تحدث فى الزيوت والدهون المسخنة

Fat/oil heating	*Reaction*	*Products*
1. Deep frying without food	Autoxidation Isomcrization Polymerization	Volatile acids Aldehydes Esters Alcohols Epoxides Branched chain fatty acides Dimeric fatty acids Mono- and Bicyclic compounds Aromatic compounds Compounds with Trans double bonds Hydrogen, CO_2.
2. Deep frying with food added	As under 1. and in addition hydrolysis	As under 1, and in addition free fatty acids, mono- and diacylglycerols and glycerol

المصدر: chang et al (1978)

جدول رقم (٤٧): المواد الطيارة المتكونة من تسخين ترای استيارين

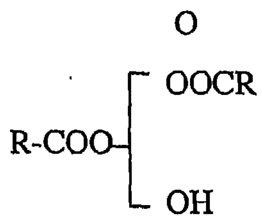
Class of compound	Portion	C-number	Major compounds
Alcohols	2.7	4-14	n-Octanol n-Nonanol n-Decanol
γ-Lactones	4.1	4-14	γ-Butyrolactone γ-Pentalactone γ-Heptalactone
Alkanes	8.8	4-17	n-Heptadecane n-Nonane n-Decane
Acids	9.7	2-12	Caproic acid Valeric acid Butyric acid
Aldehydes	36.1	3-17	n-Hexanal n-Heptanal n-Octanal
Methyl ketones	38.4	3-17	2-Nonanone 2-Heptanone 2-Decanone

المصدر: Chan (1987)

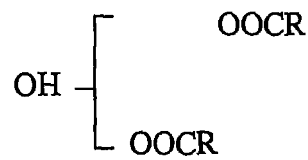
وإذا تفاعـل الجليسـرول مـع جزيئين من الأحماض الدهنية فيتكون جليسـريد ثنائى Diglyceride وقد تكون الاحماض الدهنية من نوعية واحدة متماثلة او يكون الحمضان مختلفين.

وإذا ارتبط الجليسرول مع ثلاثة جزيئات من الأحماض الدهنية فيتكون جليسريد ثلاثى Triglyceride وقد تكون الأحماض الدهنية من نوع واحد أو مخـتلفة ولذا فإن عدد الجليسريدات الثلاثية الناتجة تتوقف على نوعية وعدد الأحمـاض الدهنـية المـرتبطة مع الجليسرول، ويستخدم الرمز Sn لتحديد موضع الارتباط مع الحمض الدهنى على ذرات كربون الجليسرول.

ويـبلغ عـدد المشـابهات من الجليسريدات الثنائية التى تحتوى على الأحماض الدهنية المتماثلة (أى من نفس نوع الحمض) مشابهين اثنين

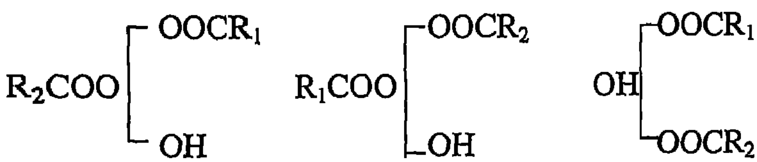


Sn 1,2-diglyceride

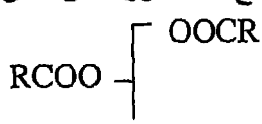


Sn 1,3-diglyceride

أمـا إذا كـان المتفاعل مع الجليسرول نوعين مختلفين من الأحماض الدهنية فتكون من المشابهات ثلاثة

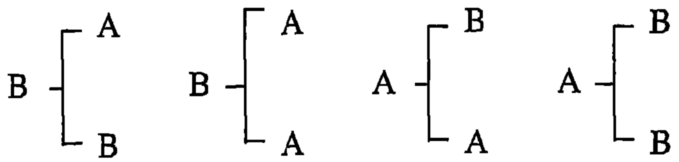


وفـى حالـة الجليسـريد الثلاثى يتكون جليسريد واحد فقط إذا كانت الأحماض الدهنية المتفاعلة مع الجليسرول من نفس النوع

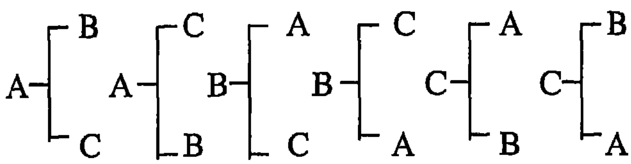


- OOCR

وإذا كان الجليسريد الثلاثى احتوى على نوعين مختلفين من الأحماض الدهنية يتكون أربعة مشابهات:



وفـــى حالة احتواء الجليسريد الثلاثى على ثلاثة أحماض دهنية مختلفة فيتكون ستة مشابهات:



وتقسم الجليسريدات الثلاثية على أساس محتواها من الأحماض الدهنية المشبعة (S) وغير المشبعة (U) إلى أربع مجموعات هي:

SSS SSU SUU UUU

وفى هذه الحالة إذا احتوى جليسريد ثلاثى على حامضين أحدهما مشبع والاخر غير مشبع فيتكون ٦ مشابهات هي:

SSU	SUS	SSS
UUS	USU	UUU

الفوسفوليبيدات: Phospholipids

تعتبـــر الفوســـفوليبيدات مـــن أهم المكونات الحيوية لليبيدات الأغشية الخلوية وبعض الجسيمات مثل الميتاكوندريا mitochondria وهذه المكونات توجد بنسبة صغيرة فيما عدا صفار البيض والأنسجة العصبية ويوجد نوعان من الفوسفوليبيدات، هما الاسفنجوميلين sphingomyelin والجليسروفوسفاتيد

glycerophosphatides والشـكل رقـم (١٦) يوضـح التـركيب العـام للفوسفوليبيدات.

وجديـر بالذكـر فـإن هناك خمسة أنواع من الفوسفوليبيدات الشائعة تخـتلف فـى نوعية الكحول الداخل فى تركيب جزيء الفوسفوليبيدات كما يتضح من الجدول التالي:

نوع الفوسفوليبيد		نوع الكحول
فوسفاتيديل كولين phosphatidyl choline (PC)	$CH_2OH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}N(CH_3)_3OH$	كولين choline
فوسفاتيديل إيثانول امين phosphatidyl ethanolamine (PE)	$CH_2OH\text{-}CH_2\text{-}NH_2$	إيثانول أمين ethanolamine
فوسفاتيديل سيرين phosphatidyl serine (PS)	$CH_2OH\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH$	سيرين serine
فوسفاتيديل اينوزيتول phosphatidyl inositol (PI)	$(OH)_6C_6H_6$	اينوزيتول Inositol
فوسفاتيديل جليسرول phosphatidyl glycerol (PG)	$CH_2OH\text{-}CHOH\text{-}CH_2OH$	جليسرول Glycerol

ويسـمى الفوسـفاتيديل كولـين بـ الليسيثين Lecithin بينما يسمى الفوسفاتيديل إيثانول أمين بـ السيفالين Cephalin.

A.

CH_2-O-CO-R_1
|
CH-O-CO-R_2
|
CH_2-O-P-O-R_3
O OH

B.

CH_3-$(CH_2)_{12}$-CH=CH-CH-OH
|
CH-NH-CO-R_1
|
CH_2-O-R_2

A.
Glycerophosphatides:

R_1, R_2 =long chain fatty acids

B.
Sphingomyelins:

R_1=Long chain fatty acid (amid bond)

R_2 = pnosphoric ester of choline

R_3=choline (*) HO-CH_2-CH_2-N$(CH_3)_3$OH

ethanolamine(**) HO-CH_2-CH_2-NH_2

serine HO-CH_2-CH-COOH (with NH_2 on CH)

(*) Lecithin
(**) Cephalin

شكل رقم (١٦): تركيب الفوسفوليبيدات

ويحـــدث فـــى الوســـط الحامضـــى acid hydrolysis تحلـــيل كامل للفوسفوليبيد منتجة الجليسرول وأحماضاً دهنية وحمض الفوسفوريك والقاعدة الكحولية كما توضحها المعادلة التالية:

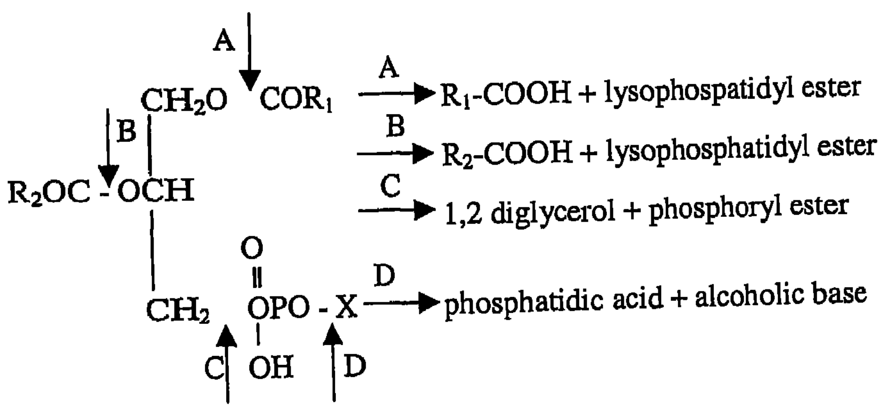
CH_2OCOR_1		CH_2OH		R_1-COOH	
$CHOCOR_2$	acid	CHOH	+	R_2-COOH + H_3PO_4 + X-OH	
CH_2O POX (O, OH)	------------- hydrolysis	CH_2OH			
phospholipid		glycerol		fatty acids	phosphoric acid / alcohol base

وفـــى التحليل القاعدى alkali hydrolysis يحدث تحليل هادى mild hydrolysis وتــتحلل فقــط الــروابط الإستيرية وتتحرر الأحماض الدهنية وتــتكون مــركبات وســطية من الجليسروفوسفاتيد glycero phosphatide وباســتكمال التحليل تتحرر القاعدة الكحولية alcoholic base بالإضافة إلى مخلوط من المشابهات من أحماض ألفا وبيتا جليسروفوسفوريك α and β - glycerophosphoric acid والمعادلـــة التالـــية توضـــح مـــثالا فى تحليل الفوسفاتيديل كولين.

$$\text{PC} \xrightarrow[\text{hydrolysis}]{\text{mild}} \text{fatty acids} + \text{GPC} \xrightarrow[\text{hydrolysis}]{\text{strong}} \text{choline} + \alpha \text{ and } \beta\text{-GPA}$$

والتحليل الإنزيمى يكون أكثر تخصصا فى عمليات التحليل فيقوم إنزيم phospholipase-A بتحلـــيل الـــرابطة الاستيرية ألفا α acyl group منتجة أحماضـــاً دهنية واسترليسوفوسفاتيديل lysophosphatidyl بينما يقوم إنزيم phospholipase B بتحلـــيل الرابطة الإستيرية فى الوضـع B وتنتج أيضا أحمـــاض دهنية واسترليسوفوسفاتيديل، بينما يقوم إنزيم phospholipase C بتحلـــيل الـــرابطـــة الفوسفاتية من جهة الجليسرول وتنتج جليسريدات ثنائية واستر فوسفاتي، ويقوم إنزيم phospholipase D بتحليل الرابطة الفوسفاتية مـــن جهة القاعدة الكحولية منتجة حمض الفوسفاتيديك phosphatidic acid والقاعدة الكحولية.

ويمكن توضيح التفاعلات الإنزيمية السابقة فى الشكل التالي:



الشموع Waxes

وهـــى إســـترات أحاديـــة للأحماض الدهنية مع كحولات وكلاهما ذو سلســـلة كـــربونية طويلة، وأغلب الأحماض الدهنية تكون مشبعة والشموع صـــلبة علـــى درجـــة حرارة الغرفة، كمثال على التركيب البنائى للشموع توضحه المعادلة التالية

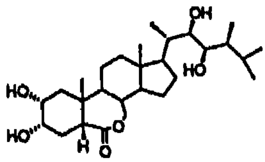
تفاعل كحول ٢٢: ١ مع حمض دهن ٢٠: ١

$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH(CH)_9-COO(CH_2)_{12}-CH=CH-(CH_2)_7-CH_3$

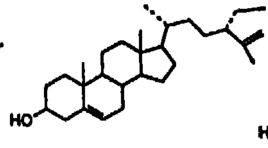
الاستيرولات Sterols

وهـــى كحـــولات ذات نقطة انصهار عالية قابلة للتبلور ومتعادلة وغير قابلة للتصبن، والاستيرولات توجد بنسبة منخفضة فى الزيوت والدهون ولكنها تكون نسبة كبيرة من المواد غير القابلة للتصبن تصل إلى ٧٠ – ٨٥%

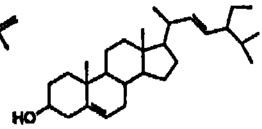
وفـــيما يلى التركيب الكيميائى لبعض الإستيرولات المهمة فى الزيوت والدهون.



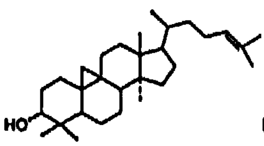
Brassinolide



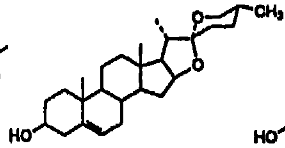
Clerosterol



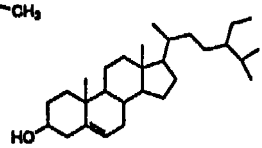
Stigamosterol



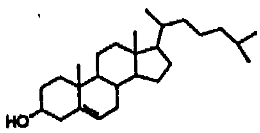
Cycloartenol



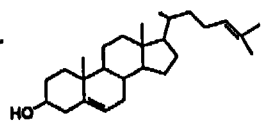
Diosgenin



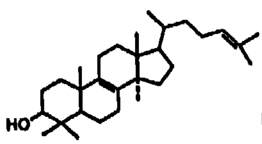
Sitosterol



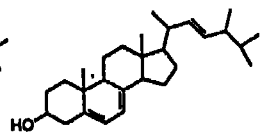
Cholesterol



Desmosterol



Lanosterol



Ergosterol

العوامل المؤثرة على خواص الجودة فى الزيوت
Factors affecting the quality properties of oils

تعتبـــر جـــودة الزيوت والدهون هى العامل المهم لقبول هذه الزيوت، وتعبـــر درجة ثبات الزيوت والدهون عن مدى المقاومة لأى تغيرات سواء مـــن الخواص الطبيعية (اللون - اللزوجة - التركيب البللوري) أو الخواص الكيماوية (التحلل - الأكسدة - تغيرات الرائحة - البلمرة) وجدير بالذكر فإن هـــناك بعـــض الإضـــافات التى تلعب دوراً هاماً فى جودة وثبات منتجات الـــزيوت والدهون تشمل مضادات الأكسدة antioxidants مضادات الرغوة antifoaming agents - المســـتحلبات emulsifiers - مثـــبطات البللورة crystal inhibitors.

وقـــد عرف العالم Webster درجة ثبات الزيوت oil stability بمدى المقاومـــة لأى تغيـــر طبيعى أو كيمياوى يؤدى إلى تدهور الزيت، كما أن الجودة تعنى عاملا هاما للقبول أو الرفض لدى المستهلك.

ويمكن إيجاز أنواع الثبات types of stability فيما يلي:

١- الثبات التأكسدى Oxidative stability

٢- ثبات النكهة Flavour stability

٣- ثبات اللون Colour stability

٤- الثبات التحللى Hydrolytic stability

٥- الثبات الحرارى Heat stability

٦- الثبات الضوئى Light stability

٧- ثبات المستحلب Emulsion stability

٨- ثبات تكوين الرغوة Foam stability

٩- ثبات تكوين البللورات Crystal stability

كمـــا أن هـــناك عديـــدا مـــن العوامل تؤثر على درجة ثبات الزيوت والدهون ومنتجاتها وهي:

الفوســفوليبيدات phospholipids – الصـــابون soaps – الإنزيمات enzymes – العناصر المعدنية metals مضادات الأكسدة antioxidants – الصـــبغات pigments الضـــوء light – تخـــزين البذور seed storage – تخزين الزيوت oil storage – ظروف عملية إزالة الرائحة deodorization conditions من حرارة وزمن ومعدلات تبريد.

وتجـــدر الإشارة إلى أن أنواع الثبات السابق الإشارة اليها تتداخل مع بعضـــها الـــبعض، علـــى سبيل المثال، فإن ثبات النكهة flavour stability والثبات التأكسدى oxidative stability فهما يمكن اعتبارهما خاصية واحدة حـــيث إنه تبعا لمعدلات الاكسدة فى الزيت والدهن تنتج نواتج الأكسدة التى تؤثـــر بالطبع على خاصية النكهة وقد تحدث أكسدة فى الزيت وتتكسر نواتج الأكسدة وتتطاير ولا تكون هناك نكهة مميزة تدل على حدوث ذلك.

وبالنســبة لثــبات اللون color stability فى الزيت المكرر المبيض والمـــزال منه الرائحة refined bleached deodorized oil فإن اللون يكون عادة اصفر خفيفا light yellow وخلال معاملات التصنيع فإن هناك مكونات مثل الصبغات والتوكوفيرولات والمعادن والفوسفوليبيدات وبعض المركبات الصـــغرى الأخـــري، فتؤثر نسبة هذه المكونات وأنواعها على درجة ثبات اللون وبالتالى على خواص الجودة فى المنتج النهائي.

ويعتبـــر الثـــبات التحللـــى hydrolytic stability عـــاملا مؤثرا فى الجليســـريدات التـــى تحتوى على أحماض دهنية قصيرة السلسلة مثل زيت جـــوز الهـــند cocanut oil، زيت نوى النخيل plamkernel oil، دهن اللبن dairy fat فتنفـــرد الأحماض الدهنية وتبعا لنوعية هذه الأحماض يعزى إليها عـــدد مـــن الروائح والنكهة غير المرغوبة مثل Soapy flavour, goaty flavour, cheesy flavour. وهذه لا تكون مرغوبة فى المنتج النهائي.

وخـــلال عمليات القلى فى الزيوت والدهون فإنه تتكون أحماض دهنية ســـواء بالـــتحلل hydrolysis أو الاكسدة oxidation مسببة بعض الظواهر

أو الصـــفات غيـــر المـــرغوبة سواء فى النكهة flavour أو نقطة التدخين smoke point أو معامـــل التوصـــيل الحـــرارى thermal conductivity، وبالإضـــافة إلى عامل التسخين فإن الرطوبة فى المادة الغذائية والأكسوجين الجوى يؤدى إلى تكوين أحماض دهنية منفردة مسببة روائح غير مرغوبة.

وتعتبر مدى مقاومة الزيت لتكوين رغوة من أهم الصفات فى الزيوت المســتخدمة فى عمليات القلى للأغذية frying oils وبزيادة زمن القلى يزداد تكـــوين المواد القطبية polar compounds والبوليمرات polymers وتتكون الـــرغوة، وفى حالة تصنيع الشورتنينج الخاص بمنتجات المخابز baking shortening فإنـــه تضـــاف مـــواد مستحلبة emulsifiers وذلك لزيادة فعل الـــرغوة وزيادة حجم الكيك ويكون ذلك مرغوبا فيه فى هذه الحالة، وبالتالى يجب عدم خلط ذلك النوع من الشورتنينج مع دهون القلي.

كمـــا أن الثبات الحرارى وتحمل عمليات التسخين من الصفات المهمة المميزة للزيوت والدهون المستخدمة فى معاملات قلى الأغذية، فالزيوت التى يحـــدث لها أكسدة وبلمرة خلال عمليات القلى يستلزم ذلك تكوين رغوة فى الزيت، وبالتالى تكون ضعيفة التوصيل الحرارى وتقلل من صلاحية الزيت للاستخدام.

ويعتبـــر ثـــبات المستحلب emulsion stability صفة ذات أهمية فى بعـــض المنـــتجات الدهنية مثل زبدة الفول السودانى peanut butter وزيت الســـلاطه salad dressing والمايونيـــز mayonnaise والمارجـــرين margarine ذلـــك لأن أى تغيـــر فى نظام المستحلب يؤدى إلى التأثير على القوام texture وخاصية الاحساس بالفم للمنتج mouth feel.

ويعمد المستهلك إلى رؤية الزيت أثناء عملية الشراء ولذا تعبأ الزيوت فى عبوات بلاستيك شفافة وبالتالى فإن شفافية العبوات تسمح لتعرض الزيت للضـــوء ممـــا قد يسبب أكسدة وإنتاج مواد نكهة غير مرغوبة off-flavour تزداد حدتها فى الزيوت ذات الثبات الضوئى الضعيف poor-light stability وعلـــى ســـبيل المـــثال فإن زيت فول الصويا soy bean oil أو زيت بذور الشـــلجم المنخفض الايروسيك cow erucic rapeseed oil فى وجود الضوء

تتغيــر الــنكهة المميزة نتيجة الأكسدة الضوئية light oxidation مسببة فى المراحل الأولى من هذا التأثير أنواع مختلفة من النكهة. , green flavour grass flavour, weedy flavour, hay-like flavour بيــنما تســبب فــى المــراحل المتأخــرة من الأكسدة أنواع نكهة مثل painty flavour, melon flavour, fishy flavour. وقــد تحدث الأكسدة بواسطة الأكسوجين الجوى كما فى زيوت بذرة القطن cotton seed oil القرطم safflower oil والفول السودانى peanut oil والذرة corn oil.

وهــناك بعض العوامل الأخرى التى تؤثر على درجات ثبات صفات الجــودة فى الزيوت المنتجة، مثل صفات وحالة البذور الزيتية ومدى كفاءة معــاملات التصــنيع المخــتلفة، وعلى ذلك فإن أى تدهور أو إنخفاض فى صــفات الــبذور المستخدمة لتصنيع الزيوت يؤدى إلى إنتاج زيت منخفض الجــودة، ذلك لأن إنزيمات الليبواكسوجينيز lipoxygenases والفوسفوليبديز phospholipases والتــى توجد طبيعيا فى البذور ولكن فى حالة غير نشطة وعــندما تتعرض هذه البذور لأى من عوامل التلف مثل الرطوبة أو التكسير فإن ذلك ينشط هذه الإنزيمات مسببه تكوين مركبات غير مرغوبة سواء فى النكهة off-flavour أو اللون off-colour.

وهــناك صــفات ظاهرية للبذور تؤثر على جودة الزيت المنتج مثل الــبذور غيــر الناضــجة immature seeds ذلك أن البذور الخضراء غير الناضــجة يــؤدى إلى زيادة نسبة صبغات الكلورفيل فى الزيت مما يستلزم معــاملات أكثــر عــند إجراء عمليات التبييض bleaching ويكون الزيت منخفضــا فــى درجــة الثبات الأكسيدى poor oxidative stability، كذلك البذور العفنة moldy seeds فإن زيادة نسبة الرطوبة بها يؤدى إلى أن تكون الــبذور أكثر عرضة للتحلل الإنزيمى وإرتفاع نسبة الأحماض الدهنية الحرة ويتميز الزيت الناتج برائحة مميزة musty، وتؤدى البذور المكسورة split seeds وانشاقها إلى زيادة نشاط الإنزيمات وزيادة معدلات التحلل الإنزيمى وتفــاعلات الأكسدة وإرتفاع محتوى الزيت من نواتج الأكسدة Oxidation by-products content.

وتختلف المعاملات التكنولوجية التى تجرى على البذور الزيتية لاستخلاص وتصنيع الزيوت، على سبيل المثال، يزال الزغب من بذور القطن والقشور من بذور فول الصويا بينما يتم استخلاص الزيت من الزيتون بالضغط أو العصر pressing بينما تفصل حبوب الذرة ثم يستخلص فيها الزيت ولذا فإن تعرض البذور والحبوب الزيتية لأى ظروف غير مناسبة مثل التداول أو النقل أو التخزين السيئ أو التعرض للحرارة أو الرطوبة أو الغمر فى ماء أو مايشابه ذلك فإن الزيت الخام الناتج سوف يحتاج إلى معاملات أكثر للحصول على زيت عالى الجودة.

وجدير بالذكر فإن طحن وتكسير البذور يؤدى إلى تحرير الإنزيمات خاصة إنزيمات التحلل الليبيدى lipases فترتفع الحموضة وكذلك الإنزيمات المؤكسدة oxidative enzymes التى تؤكسد الأحماض الدهنية غير المشبعة وبالتالى تؤثر هذه العوامل على جودة الزيت الناتج ودرجة ثابته، لذا يجب عدم تخزين أو ترك البذور التى تم طحنها أو تكسيرها بل يجب استخلاص الزيت منها عقب هذه المعاملة.

ولقد اوضحت الدراسات أن طرق الاستخلاص تختلف فى تأثيرها على خواص الجودة للزيت الناتج حيث تم مقارنة زيت مستخلص بثلاث طرق الأولى بالمذيبات العضوية solvent extraction والثانية العصر pressing والثالثة الطرد expulsion ثم تكرير وتبييض الزيت الخام الناتج وهدرجته جزئيا حتى رقم يودى ٩٨-١٠٠ حيث لوحظ فروق بسيطة فى تركيب الأحماض الدهنية كما تراوحت نسبة البوليمرات بين. ٥٠ -. ٦٠% إلا أن الزيت المستخلص بالمذيبات العضوية كان ذا ثبات عال للنكهة على درجة ٥٧ْم بدرجة أفضل من ذلك المستخلص بالطرق الأخري، فى حين كانت درجات الثبات الضوئى متقاربة فى الزيوت المستخلصة بالطرق الثلاث المشار إليها، وكان الزيت المستخلص بالمذيبات أعلى فى الثبات الحرارى بالمقارنة بالأنواع الأخري.

ويوضح الجدول رقم (٤٨) تأثير طرق الاستخلاص على تركيب وخواص الجودة فى زيت فول الصويا.

جدول (٤٨): تأثير طرق الاستخلاص على تركيب وخواص الجودة فى زيت فول الصويا

Characteristic	Extracted Oil	Expressed Oil	Expelted Oil
Fatty Acid Comp.			
C_{16}	10.1	9.7	9.7
C_{18}	4.4	4.5	4.2
$C_{18:1}$	52.6	52.3	51.9
$C_{18:2}$	30.3	36.2	31.2
$C_{18:3}$	2.2	2.4	2.4
Polymers (% GPC)	. .6	. .5	. .6
Iodine Value			
Vlavor Stability @ 57°C	98.2	99.0	100.2
Initial	8.0	8.0	8.0
2 days	8.0	6.0	7.0
9 days	8.0	8.0	7.0
Light Stability @ 75fc			
Odor evaluation			
Initial	1	1	1
1 days	1	1	1
6 days	1	2	1
15 days	3	3	3
Heat Stability @ 180°C			
OSI @ 110C (hrs.)			
0 hrs.	14.1	11.2	11.9
2 hrs.	8.4	7.6	8.6
4 hrs.	4.3	2.2	5.6
6 hrs.	. .2	-	2.0

وتجـــدر الإشارة إلى أن درجة الحرارة والزمن اللازم لازالة المذيب العضوى بعد الاستخلاص يؤثر على صفات وتركيب الزيت النهائى ذلك لأن اســـتخدام حرارة عالية أو زمن طويل أكثر من اللازم لا يؤدى إلى التخلص مـــن الفوسفوليبيدات بسهولة خلال مرحلة الـــ degumming وبالتالى ترتفع نســـبة الفوسفوليبيدات ويكون هذا الزيت ضعيف الثبات بالنسبة للون poor color stability وضـــعيف الثبات بالنسبة للنكهة poor flavour stability،

ولقـــد أوضــــحت الدراسات أن إجراء عملية الـــ degumming لزيت فول الصويا الخام بواسطة الماء المقطر أو الماء المزال منه الأيونات أو باستخدام ماء يحتوى على كربونات كالسيوم أو كربونات مغنسيوم أو كلوريد حديديك أو كلـــوريد صـــوديوم لوحظ انخفاض درجة الثبات للزيت الناتج كلما زادت تركيـــزات الاملاح فى الماء المستخدم كما زاد معدل الأكسدة للزيوت الخام المعاملة بالماء المحتوى على كلوريد حديديك بالمقارنة بالأملاح الأخري.

كذلك فإن النكهة المميزة melon flavour تظهر عند إجراء عملية الـــ degumming باســتخدام حمـــض الفوســـفوريك بينما تظهر نكهة green reversion إذا استخدم حمض الستريك، كما أن استخدام حمض الفوسفوريك يؤثــــر على لون الليسيثين المسترجع فيكون ذا لون أخضر داكن ولهـــذا لا يصـــلح إجـــراء عملية الـــ degumming بواسطة حمض الفوسفوريك عند إنتاج الليسيثين تجاريا.

وتـــؤدى عملـــية التكرير refining إلى إزالة حوالى ٩٥-٩٧% من تركيـــز المعادن الموجودة فى الزيت المعامل بعملية الـــ degumming مما تحســـن من درجة الثبات الأكسيدى oxidative stability فى الزيت المكرر، ويوضـــح الجـــدول رقم (٤٩) تركيز معادن الفوسفور، الحديد، الماغنسيوم، الكالسيوم كنتيجة لتأثير معاملة التكرير على الزيت.

جدول (٤٩): تأثير معاملة تكرير الزيت على تركيز العناصر المعدنية

Sample	Metals in degummed oil (ppm)				Metals in refined oil (ppm)			
	P	Fe	Mg	Ca	P	Fe	Mg	Ca
1	134	0.1	7	8	3	<0.05	0.2	0.2
2	21	0.2	5	13	6	0.1	0.2	0.4
3	53	0.1	3	4	7	<0.05	0.5	0.8
4	108	0.4	23	44	5	<0.05	0.5	0.9
5	83	0.1	9	11	3	<0.05	0.1	0.2
6	168	1.1	37	81	4	<0.05	0.8	1.2
7	78	0.4	19	35	3	<0.05	0.3	0.5
8	75	0.4	18	37	7	<0.05	0.8	1.6
9	129	1.4	28	66	3	<0.05	0.7	1.3
10	72	0.1	6	10	2	<0.05	0.2	0.3
Avg.	92	0.4	16	31	4	<0.05	0.4	0.7

ولقــد لــوحظ أن زيــت الكانولا الخام يحتوى على تركيز مرتفع من صــبغات الكلوروفيل والتى تعتبر مادة مساعدة للأكسدة prooxidant تتأثر بالضــوء، وتقل تركيزات صبغات الكلوروفيل بمعاملات الــ degumming والــــ refining، والــــ bleaching علـــى الــزيت، ويجب ألا تزيد نسبة صــبغات الكلوروفيل عن ٥٠ جزءاً فى المليون وذلك لتلافى تأثيرها كمادة مساعدة للأكسدة السريعة فى وجود الضوء.

وتؤدى عملية الــ bleaching إلى انخفاض مستوى الصبغات ونواتج الأكســدة والمعــادن والفوسفوليبيدات والبوليمرات وهذا بالطبع يؤدى إلـــى تحســين درجــة الثبات للزيت الناتج. ولقد وجد أن مشتقات الكلوروفيللات تخــتلف فـــى درجــة نشاطها حيث إن كلوروفيل (ب) كان أعلى نشاطاً من كلوروفـــيل (أ)، كما أن الــ pheophorbides والــ pheophytin أظهرت نشاطاً أعلى من الكلوروفيل نفسه.

ولقــد أوضــحت الدراسات أنه للحصول على درجة عالية من الثبات الأكســيدى يجــب أن يحــتوى الــزيت المكرر والمزال الرائحة refined bleached deodorization علـــى أقل من. ١٠ جزء فى المليون من عنصر الحديد، .٢ جزء فى المليون من عنصر النحاس.

تــؤدى عملية إزالة الرائحة من الزيت إلى التخلص من المواد الطيارة المســببة للنكهة وكذا بقايا المذيب العضوى المستخدم فى الاستخلاص، كما تــنخفض نسبة الأحماض الدهنية والهيدروبيروكسيدات فى صورة متطايرة، كمـــا تقـــل نســـبة المـــواد غيـــر القابلة للتطاير نسبيا مثل التوكوفيرولات والاستيرولات والمونو والداى جليسريدات.

المـــواد المثـــبطة أو المانعـــة للرغوة antifoaming تحسن من جودة الزيوت خاصة أثناء عمليات القلي.

يتضح مما سبق أن هناك عوامل ومعاملات كثيرة فى تكنولوجيا إنتاج الــزيوت والدهون يجب الاهتمام بها ودراسة علاقتها بتركيب الزيت الناتج وخواص الجودة فيه ولإنتاج زيت أو منتج عالى الجودة.

تحليل الزيوت والدهون
Fats and Oils analysis

يقسم تحليل الزيوت والدهون إلى قسمين رئيسين هما:

الأول: تحليل خواص وتركيب الزيوت والدهون.

الثانى: تحليل خواص وتركيب اللبيدات المستخلصة من المواد الغذائية.

وعموما يمكن إيجاز أهمية تحليل الليبيدات بصفة عامة فى الأغذية فى المحاور التالية:

١- تحديد الاحتياجات التغذوية السعرات الحرارية.

٢- التعرف على مدى مطابقة المنتج للمواصفات القياسية.

٣- التعرف وفهم تأثير الليبيدات على الخواص الوظيفية والتغذوية للغذاء.

٤- التعرف على الخواص الطبيعية وثوابت الزيوت والدهون.

٥- التعرف على الخواص الكيماوية للزيت أو الدهن فى المنتج الغذائى.

٦- التعرف على نوعية ونسبة المكونات الليبيدية فى المنتج الغذائى.

٧- التعرف على تركيب الأحماض الدهنية من حيث النوع ونسبتها.

٨- دراسة مدى تأثير المعاملات التكنولوجية فى الأغذية على صفات وخواص الزيت أو الدهن.

٩- تحديد درجة نقاوة الزيت أو الدهن.

١٠-الكشف عن الغش ونوعيته ونسبته.

١١-الكشف عن الخلط فى الزيوت وتأثير ذلك على خواص المنتج.

١٢-تحديد مدى صلاحية الزيت أو الدهن للاستهلاك الغذائى.

١٣-تحديد درجة ثبات الزيوت والدهون.

الاعتبارات العامة الواجب مراعاتها عند تحليل الزيوت والدهون

General considerations in lipid analysis

١- تذوب الليبيدات فى المذيبات العضوية و لا تذوب فى الماء ولذا تؤخذ هذه الخاصية كأساس تحليلي لفصل الليبيدات عن البروتينات و الكربوهيدرات.

٢- تذوب الجليكوليبيدات فى الكحولات كما أنها ذات قابلية منخفضة للذوبان فى الهكسان.

٣- تذوب الجليسريدات الثلاثية فى الهكسان و البترووليوم إيثير وهى من المذيبات غير القطبية.

٤- المدى الواسع لخاصية hydrophobicity النسبية لليبيدات المختلفة تجعل من الصعوبة بمكان اختيار مذيب واحد لاستخلاص الليبيد.

٥- بعض الليبيدات فى الأغذية عبارة عن مكونات معقدة من الليبوبروتينات Lipoproteins والليبوسكريدات Liposaccharides ولهذا فإن الاستخلاص الناجح يؤدى إلى كسر الروابط بين البروتينات أو الكربوهيدرات والليبيد حتى يمكن تحرير حبيبات الدهن ويكون أكثر قابلية للذوبان فى سائل الاستخلاص.

٦- تتوقف دقة الطريقة المناسبة لتقدير المحتوى الدهنى فى العينة الغذائية على درجة الذوبان لليبيد فى المذيب المستخدم.

٧- تختلف دقة النتائج المتحصل عليها تبعا لنوع مذيب الاستخلاص وكفاءته.

٨- تعتمد دقة وكفاءة تحليل الزيوت والدهون على تجهيز وحفظ العينات قبل وأثناء التحليل، كما أن تجهيز العينة يتوقف على نوع العينة الغذائية ونوع وطبيعة الليبيد المراد تحليله.

٩- تعتمد كفاءة الاستخلاص على حجم الجزيئات وكلما كانت الجزيئات أصغر ما يمكن زادت مساحة السطح وكفاءة الاستخلاص.

١٠- فـى العيـنات الغذائية الرطبة فإن مذيب الإيثيل إثير لا يصلح لاسـتخلاص الليبـيد وذلك لأن المذيب لا يستطيع التخلل بسهولة في أنسجة العينة الغذائية كما أن الإيثير مذيب هيجروسكوبى ويمكن أن يشبع بالرطوبة ويصبح غير مناسب لذا يجب تجفيف العينة أولا فى فرن تجفيف تحت تفريغ أو استخدام طريقة lyophilization التى تزيد مساحة السطح وتحسن كفاءة الاستخلاص.

١١- فـى الأغذيـة التـى تحـتوى علـى ليبـيدات مرتبطـة مثل الليبوبـروتينات والليبوجليكوسـيدات مـثل منـتجات الألبان والمخابز فإن الاسـتخلاص المباشر بالميذيبات غير القطبية يكون غير مناسب ولذا يجب تجهيز العينية الغذائية أولا بالتحليل الحامضى acid hydrolysis باستخدام حمـض هـيدروكلوريك ٣ع وكحـول إيثانول والهكساميتا فوسفات لتشجيع تحرر حبيبات الدهن.

١٢- فـى حالـة الأغذية المحتوية على محتوى رطوبى مرتفع مثل اللحوم والأسماك ومنتجاتها الطازجة يستخدم مخلوط من مذيبين مختلفين فى درجـة القطبـية مـثل الكلورفـورم والميثانول بنسبة ٢: ١ وتفصل طبقة الكلورفـورم المحـتوية علـى الليبيد بواسطة قمع فصل كما يمكن استخدام مخلوط من الهكسان والايزوبروبانول بنسبة ٣: ٢.

١٣- يـتم تبخيـر المـذيب بواسـطة جهاز Rotary evaporator باستخدام غاز خامل (نيتروجين) لمنع حدوث أكسدة.

١٤- يجب الاهتمام بحفظ عينات الزيت أو الدهن أو الليبيد فى أوعية داكنة اللون لتجنب التعرض للضوء مع عدم التعرض للحرارة أو الأكسوجين لتلافى حدوث أكسدة.

١٥- يجـب اختـيار نوع المذيب المناسب لعملية الاستخلاص بحيث يتميز بما يلى:

أ قـوة الارتباط والإذابة لليبيد بدرجة أكبر من الارتباط بالبروتينات أو الأحماض الأمينية أو الكربوهيدرات فى العينة الغذائية.

ب- سريع التطاير دون أن يترك أى متبقيات غير مرغوبة.

ج- انخفاض نقطة الغليان.
د غير قابل للاشتعال ما أمكن.
هـ-غير سام سواء فى الحالة السائلة أو الغازية.
و ذو قابلية كبيرة على تخلل جزئيات العينة.
س- يتميز بأنه hygroscopic non.
ح اقتصادى ومتوفر.

استخلاص الزيوت والدهون للتحليل

Extraction of fats and oils for analysis

تخـتلف طـرق اسـتخلاص الزيوت والدهون تبعا لعدة عوامل يمكن إيجازها فيما يلى:

١- نـوع وطبـيعة المادة الغذائية وما إذا كانت فى صورة سائلة أو صلبة طريقة أم جافة.

٢- درجة قابلية الليبيدات للذوبان Solubility فى المذيب المستخدم.

٣- نوع ودرجة قطبية المذيب Solvent polarity.

٤- طـريقة تجهيز العينة للاستخلاص (تجفيفها حجم الجزيئات تحلل المواد المصاحبة مثل البروتينات والكربوهيدرات).

٥- مدى كفاءة الطريقة المتبعة فى استخلاص وتقدير المحتوى الدهنى بالعينة، حيث هناك طرق تتطلب أن تكون العينة جافة مثل طرق الاسـتخلاص المسـتمر continuous extraction أو بطـرق الاسـتخلاص المتقطع Intermittent extction باستخدام جهاز سوكسـلت Soxhelt، وهـناك طـرق أخرى يمكنها استخلاص وتقديـر المحتوى الدهنى فى العينات الرطبة مثل طريقة بابكوك Babcock method وهكذا.

وتقسم طرق استخلاص وتقدير المحتوى الدهنى الى ثلاثة أقسام رئيسية:

القسم الأول: طرق الاستخلاص بالمذيبات Solvent extraction methods

1- Continuous solvent extraction methods.
2- Semicontinuaus solvent extraction methods.
3- Discontinuous solvent extraction methods.
4- Elevated pressure / temperature solvent extraction methods.

القسم الثانى: طرق الاستخلاص الرطب Wet extraction methods

5- Babcock method.
6- Gerber method.
7- Detergent method.
8- Roese Gottlieb and Mojonnier method.
9- Folch method.
10- Butyrometric method.

القسم الثالث: الطرق الآلية Instrumental methods

11- Low rsolution NMR methods.
12- X- ray absorption method.
13- Dielectric constant method.
14- Infra red method.
15- Ultra sonic method.
16- Colorimetric method.
17- Density measurement method.
18- Foss Let method.
19- Milko tester method.
20- Refractive index method

وتعتمد الطرق المستمرة للاستخلاص على إمرار المذيب العضوى على العينة الجافة كما يجب أن يكون المذيب خاليا من أى رطوبة حتى لا تؤدى إلى استخلاص مواد أخرى قابلة للذوبان فى الماء تؤثر على دقة الاستخلاص

وكفاءتـــه، وعـــند انتهاء عملية الاستخلاص يتم تبخير المذيب بواسطة جهاز Rotary evaporator تحـــت تفريغ وتحسب نسبة الدهن إما بتقدير الفقد فى وزن العينة الجافة أو حساب وزن الدهن المستخلص ونسبته إلى العينة.

وفـــى طريقة الاستخلاص Semi cotinuous فإن المذيب يمرر فى وحدة الاستخلاص على العينة الجافة الموضوعة فى الكستبان thimble فى جهـــاز سوكســـلت للاستخلاص Soxhelt extractor وفى خلال ٥ ١٠ دقائـــق تمتلـــئ وحدة الاستخلاص بالجهاز ويحدث تشرب للمذيب إلى العينة فيســـتخلص الـــدهن منها ثم يحدث سيفون siphon فينتقل المذيب ذائبا فيه الدهن إلى دورق الاستقبال، ومع استمرار غليان المذيب يتحول إلى الصورة الغازيـــة فيتصـــاعد المـــذيب فقط مرة أخرى إلى الأنبوبة الوسطية ثم إلى المكثف وبإجراء تبريد يتكثف المذيب مرة أخرى فى الوحدة الوسطية لوحدة الاســـتخلاص، وتتكـــرر العملية وتستمر هكذا لمدة ٨ ١٦ ساعة وبانتهاء عملية الاستخلاص تحسب نسبة الدهن كما يلى:

$$\text{\% للدهن فى العينة} = \frac{\text{وزن الدهن المستخلص}}{\text{وزن العينة جافة}} \times ١٠٠$$

بيـــنما تعتمد Discontinuous solvent extraction على استخدام مخلـــوط مذيبات من داى إيثيل ايثير: بترروليوم ايثير بنسبة ١: ١ ومن هذه الطرق طريقة مونيير المعدلة modified mojonnire لتقدير دهن اللبن ولا تحتاج هذه الطريقة إلي إزالة الرطوبة من العينة قبل الاستخلاص، وتتلخص الطـــريقة فـــى إضافة ١,٥ مل محلول أيدروكسيد أمونيوم إلى ١٠ جرامات عيـــنة لـــبن فـــى وحدة الاستخلاص mojonnire extactor وذلك لمعادلة الحموضة فى العينة ثم يضاف ١٠ مل من كحول الإيثانول ٩٥% مع الرج الجـــيد ثـــم ٢٥مـــل مذيب داى إثيل ايثير مع الرج حيث يقوم المذيب بإذابة الليبـــيدات فـــى العيـــنة ثـــم تبـــرد العينة إذا لزم الأمر، ثم يضاف ٢٥ مل البترروليوم ايثير مع الرج الجيد حيث يستخلص الرطوبة من طبقة المستخلص الايثيـــرى يجـــرى طرد مركزى واستبعاد طبقة الايثير وتكرار الخطوات الســـابقة علـــيها يبخـــر المذيب وتوزن الليبيدات المستخلصة. وفى حالة استخدام الطريقة لتقدير الدهن فى الدقيق فإنه يؤخذ ٢ جرام من العينة يضاف

إليها ٢٠ مل كحول ايثانول في كأس سعتة ٥٠ مل، ثم يضاف ١٠ مل حمض هيدروكلوريك ويوضع الكاس فى حمام مائى على درجة ٧٠ ٨٠°م لمدة ٣٠ دقيقة، ثم يضاف بعد ذلك ١٠مل كحول ايثانول، ثم يجرى استخلاص الليبيدات بعد ذلك باتباع نفس الخطوات المذكورة سابقا فى طريقة mojonnire.

وفى طريقة Elevated pressure / temperature extraction يستخدم مذيب ثانى أكسيد الكربون فى الصورة السائلة فى ظروف فوق حرجة من الضغط ودرجة الحرارة، وتوجد طريقتان فى هذا المجال هما:

طريقة Supercritital fluid extraction (SFE) وطريقة Accelerated solvent extraction (ASE) ولقد اتضح أنه بزيادة كل من الضغط ودرجة الحرارة يزداد معدل استخلاص الليبيدات.

وتعتمد طرق الاستخلاص الرطب wet extraction على استخلاص الزيوت والدهون من المواد الغذائية كما هى بدون إجراء تجفيف للعينة، ففى طريقة بابكوك Babcock لتقدير الدهن فى اللبن يضاف حمض كبرتيك كثافته ١,٨٢ جم / سم٣ لهضم البروتينات وتحرير الدهن من العينة فى صورة طبقة دهنية، ثم يجرى طرد مركزى لمدة ٥ دقائق ويتجمع الدهن المتحرر فى أنبوبة بابكوك وتحسب نسبة الدهن مباشرة من الأنبوبة.

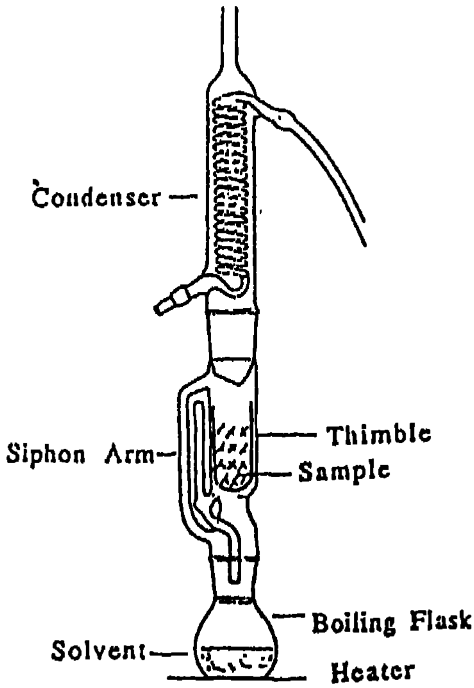
بينما فى طريقة Gerber يستخدم كحول الايامل بالإضافة إلى حمض الكبريتيك حيث يتم هضم البروتينات والكربوهيدرات وتحرر حبيبات الدهن وتبقى على الصورة السائلة فى الأنبوبة المدرجة، وبعد عملية الطرد المركزى يمكن قراءة كمية الدهن مباشرة.

وفى طريقة Detergent method نجد أنها تعتمد على التفاعل بين البروتين و detergent لتكوين معقد وكسر المستحلب وتحرير الدهن ومن مركبات الـ detergent المستخدمة هى مركب dioctyl sodium phosphate الأنيونى ومركب orbitan monolaurate الذى يتبع مركبات hydrophilic nonionic poyoxyethylene detergent.

وتعتمد طريقة Folch methiod على استخلاص الليبيدات الكلية من الأنســجة الحيوانــية والنباتــية على البارد للمحافظة على طبيعة الليبيدات المستخلصة مع تجنب حدوث أكسدة، وهذه الطريقة تستخلص الليبيدات الحرة والمرتبطة حيث يستخدم مخلوط من الكلوروفورم والميثانول بنسبة ٢: ١ أى استخدام مخلوط من مذيبين أحدهما قطبى polar وهو الميثانول لاستخلاص الــرطوبة مــن العيــنة والآخر غير قطبى non polar وهو الكلورفورم لاســتخلاص الليبــيد من العينة، ثم بواسطة قمع فصل يمكن الحصول على طــبقة الكلورفورم ويضاف إليها كبريتات صوديوم لا مائية للتخلص من أى آثار للرطوبة يبخر بعد ذلك المذيب بواسطة جهاز rotary evaporation والحصول على الدهن، وتستخدم هذه الطريقة بنجاح فى استخلاص الليبيدات مــن العيــنات الغذائية التى تحتوى على محتوى رطوبى مرتفع مثل اللحوم والأسماك ومنتجاتها، ومن أشهر هذه الطرق طريقة Bliegh and dyer.

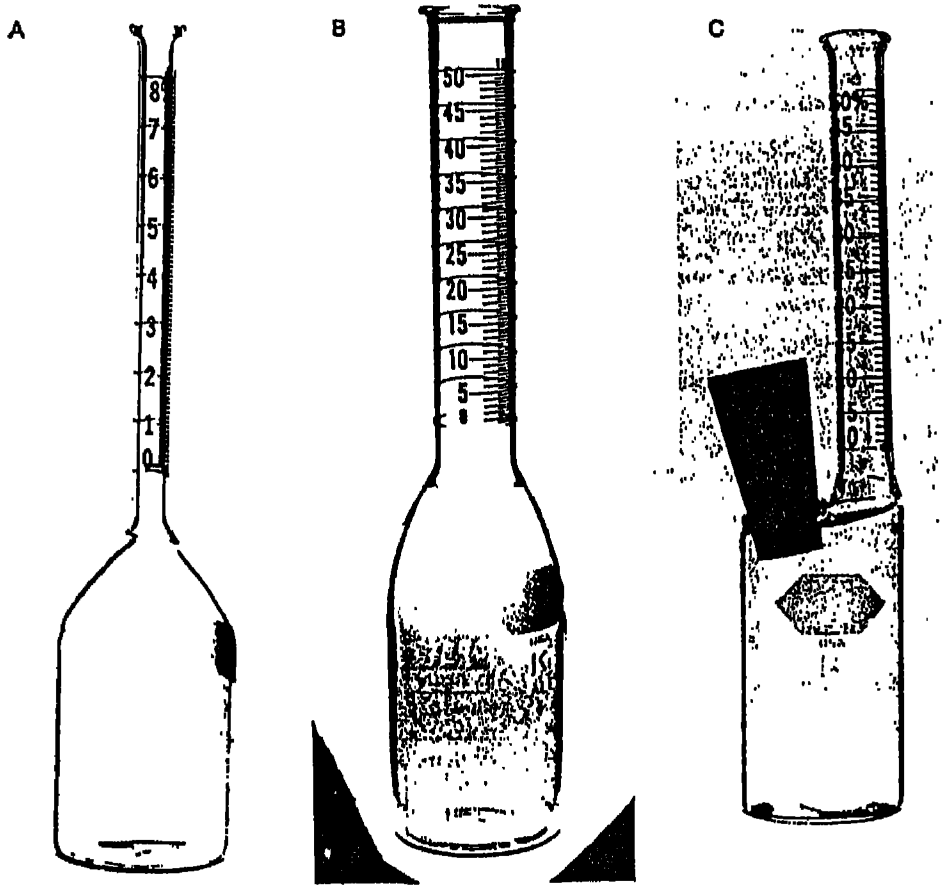
وتعتبــر الطــرق الآلية Instrnmental methods بسيطة الإجراء وســريعة وسهلة ولكنها تصلح لتقدير المحتوى الدهنى فى أغذية معينة كما أنها تحتاج إلى منحنيات قياسية خاصة بكل طريقة، وتعتمد هذه الطرق على الخــواص الإشــعاعية وامتصـــاص أشــعة أكس X-rays أو الأشعة تحت الحمراء Infra red rays أو استخدام الخواص الصوتية واختلاف سرعة الصــوت sound velcity وعلاقته بالمحتوى الدهنى فى العينة أو استخدام الترددات الصادرة من البروتونات فى جهاز NMR والتى تعكس الاختلاف فى درجة عدم التشبع والخواص الكيماوية فى العينات المختلفة.

كمــا تعــتمد بعــض الطــرق الآلية على قياس معامل Dielectric constant فــى الأغذية ومنتجاتها وعلاقة ذلك بمحتواها من الليبيدات كذلك بعض الطرق تعتمد على تفاعلات كيماوية لونية وتقدير كثافة اللون المتكون كمــا فى طريقة Hyodroxamic acid وهناك بعض الطرق الأخرى تعتمد علــى قياس معامل الانكسار الذى يعكس درجة عدم التشبع ونسبته، وبالتالى يمكن بالعلاقة بينهما تقدير نسبة الدهن، وهناك طرق تعتمد على تقدير كثافة البذور الزيتية وعلاقتها بمحتواها من الدهن أو تقدير الكثافة النوعية أو تقدير درجة العكارة مثل طريقة Milko tester method.



Soxhlet extraction apparatus.

جهاز سوكسلت لاستخلاص الليبيدات



شكل (١٨): انبوبة بابكوك لتقدير الدهن في (أ) اللبن ، (ب) القشدة ، (ج) الجبن

فصل الأحماض الدهنية Separation of fatty acids

تعتبر طرق فصل الأحماض الدهنية من الأهمية بمكان لتحليل تركيب ونوعية الأحماض الدهنية، وتوجد عدة طرق فى هذا المجال هى:

١ – التقطير Distillation
٢ – التبلور Crystallization
٣ – الفصل باستخدام اليوريا Urea fractionation
٤ – الفصل بمعامل التوزيع Counter Current distributin
٥ – الفصل الكروماتوجرافى Chromatographic frationation

وتعتمد طرق التقطير على الاختلاف فى درجة الغليان تبعا للاختلاف فى طول السلسلة الكربونية وبالتالى يمكن فصل الأحماض الدهنية قصيرة السلسة عن تلك طويلة السلسلة الكربونية، كما تجدر الإشارة إلى عدم الاعتماد على درجة عدم التشبع فى فصل مجموعة الأحماض الدهنية المتساوية فى طول السلسلة، مثال ذلك لا يمكن فصل الأحماض الاستياريك $C_{18:0}$، الأوليك $C_{18:1}$ واللينوليك $C_{18:2}$ واللينولينيك $C_{18:3}$ عن بعضها البعض.

وتستخدم طرق التقطير Steam distillation فى فصل الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة الطيارة فى دهن اللبن وبعض دهون البذور، كما تفصل الأحماض الدهنية الطيارة الذائبة فى الماء بطريقة ريخارت ميسيل ويعرف نسبة هذه الأحماض بـ Reichart Meissel number، بينما تسمى نسبة الأحماض الدهنية غير الذائبة فى الماء بـ Polensk number كما يمكن فصل الاسترات الميثايلية للأحماض الدهنية بواسطة التقطير الجزيئى Fractional distillation تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة.

وتعتمد طريقة التبلور Crystallization لفصل الأحماض الدهنية على أساس اختلاف الأحماض ومشتقاتها فى درجة ذوبانها حيث تقل درجة ذوبان الأحماض بزيادة طول السلسلة الكربونية وبزيادة نسبة الأحماض غير المشبعة فى الوضع trans أو غير المشبعة conjugated، وعلى ذلك فإن

درجة الذوبان تتأثر بثلاثة عوامل هي: (١) طول السلسلة الكربونية، (٢) موضع الرابطة الزوجية (٣) التركيب الفراغى.

وتوجد عدة طرق للتبلور منها بلورة أملاح الأحماض الرصاصية لفصل مخلوط الأحماض المشبعة وغير المشبعة، وطريقة بلورة أملاح الأحماض الليثيومية لفصل الأحماض الدهنية غير المشبعة ذات رابطة زوجية واحدة عن تلك عديدة عدم التشبع، وطريقة البلورة عند درجات حرارة منخفضة وذلك لفصل الأحماض الدهنية عالية عدم التشبع.

وتعتمد طريقة فصل الأحماض الدهنية باستخدام اليوريا على أساس أن اليوريا النقية توجد على صورة بللورات ذات شكل رباعى، ولكنها مع الأحماض الدهنية تكون بللورات منشورية سداسية ثابتة مع اليوريا، وتكون معقدات الأحماض المشبعة أكثر ثباتا من الأحماض غير المشبعة.

بينما تعتمد طرق الفصل بمعامل التوزيع على أساس أن الأحماض الدهنية تختلف فى معامل توزيعها فى مذيبات غير قابلة للامتزاج، وتكون الأحماض الدهنية الاكسوجينية أكثر ذوبانا فى المحاليل الكحولية المائية وأقل ذوبانا فى المذيبات الهيدروكربونية.

الطرق الكروماتوجرافية تعتمد على معامل توزيع الأحماض الدهنية بين طورى الوسط الثابت والوسط المتحرك وذلك من خلال الفصل بالعمود الكروماتوجرافى أو الورق الكروماتوجرافى أو الفصل على الطبقة الرقيقة باستخدام مواد ادمصاص، ويكون أساس الفصل معتمدا على خواص الامتصاص Absorption أو التوزيع partition كذلك على أساس نوع المادة المدمصة ونوع المذيبات المستخدمة فى الإزاحة elution.

بينما تعتمد طرق فصل الأحماض الدهنية بالتحليل الكروماتودجرافى الغازى على أساس أن تكون هذه الأحماض فى صورة قابلة للتطاير وذلك بإجراء عملية methylation وتكوين إسترات الأحماض الدهنية Fatty acid methyl ester ويكون أساس الفصل داخل الجهاز هو مدى تطاير وانفصال إسترات الأحماض الدهنية من العمود تبعا لنظام درجات الحرارة المستخدم وذلك اعتمادا على طول السلسلة الكربونية ودرجة عدم التشبع،

وتظهـر الأحمـاض الدهنـية علـى هيـئة منحنـيات مثلثية الشكل على الكروماتوجرام ويمكن التعرف على نوع الأحماض الدهنية بعد ذلك وحساب نسبة كل حمض دهنى فى العينة.

والوسـط المتحرك فى التحليل الكروماتوجرافى الغازى gas liquid chromatography يكون غازا خاملا (نيتروجين ارجون ايدروجين هيلـيوم) والوسـط الثابت يكون معلقا على مادة ادمصاص مثل السيليت Cilite وتعبأ فى أنبوبة طولها ٤ ١٢ قدما وقطر ٣ ٥ مم أو أنها تغطى مباشـرة الجـدار الداخلى لأنبوبة شعرية طولها ٥٠ ٢٠٠ قدم، وتجرى عملية الفصل عند درجات حرارة مرتفعة وذلك بالنسبة للمركبات ذات الوزن الجزيئى المرتفع وعند درجة حرارة منخفضة فى حالة فصل المركبات ذات الوزن الجزيئى المنخفض. ويعتمد الفصل على الاختلاف فى معامل التوزيع لمكـونات المخلـوط والذى يعتمد على تطاير الأحماض وذوبانها فى الوسط الـثابت وكـذلك الـوقت الذى يأخذه الحامض للمرور خلال العمود. وتحقن العيـنة بعـد تحـويل الأحماض الدهنية إلى إسترات الميثيل لهذه الأحماض وتوجد عدة طرق لتحضير الإسترات تتلخص فيما يلى:

١- طريقة البورون تراى فلوريد / ميثانول BF_3- methanol method

٢- طريقة حمض هيدروكلوريك / ميثانول Hcl methanol method

٣- طريقة حمض كبريتيك / ميثانول H_2SO_4 methanol method

٤- طريقة صوديوم مثيوكسيد Sodium methoxide method

٥- طريقة ديازوميتان Diazomethane method

وعـند إجـراء الفصـل الكروماتوجرافـي عـند درجة حرارة ثابتة Isothermally تنفصل المادة بسرعة من العمود وتظهر على هيئة peaks وبـرفع درجـة الحرارة بمعدل ثابت خلال عملية الفصل Temperature programming تحصـل على peaks ذات شكل مثالى واضحة ويتناسب شكل وحجم الـ peak تناسبا طرديا مع تركيز المركب المفصول.

وتحسب النسبة المئوية لكل مكون مفصول بالمعادلة التالية:

$$\% \text{ للمكون } = \frac{\text{مساحة كل peak} \times ١٠٠}{\text{المساحة الكلية للـ Peaks}}$$

وهــناك قاعدة عامة للتعرف على نوعية الأحماض الدهنية المفصولة على الكروماتوجرام Chromatogram تتلخص فيما يلى:

١- تفصــل الأحمــاض الدهنية قصيرة السلسلة ثم الأحماض الطويلة السلسلة بمعنى يتم فصل C_6 ثم C_8 ثم C_{10} ثم C_{12} ثم C_{14} وهكذا.

٢- فى حالة تساوى عدد ذرات السلسلة الكربونية يتم فصل الأحماض الدهنــية المشــبعة أولا ثــم غير المشبعة بمعنى يتم فصل $C_{12:0}$ ثم $C_{12:1}$، $C_{16:0}$ ثم $C_{16:1}$، $C_{18:0}$ ثم $C_{18:1}$ وهكذا.

٣- فــى حالــة فصــل مخلــوط الأحماض الدهنية ذات طول سلسلة كربونية متساوية ومختلفة فى درجة عدم التشبع يتم فصل الأحماض المشبعة ثــم ذات رابطة زوجية واحدة ثم ذات رابطتين ثم ذات ثلاث روابط، وهكذا بمعنى يتم فصل $C_{18:0}$ ثم $C_{18:1}$ ثم $C_{18:2}$ ثم $C_{18:3}$ ثم $C_{18:4}$ وهكذا.

وباتباع القاعدة السابقة طبقا للتسلسل السابق شرحه يمكن التعرف على الكروماتوجرام المتحصل عليه كما يلى:

١- مقارنــة الكروماتوجــرام للعينة المجهولة بكروماتوجرام مخلوط قياســى من الأحماض الدهنية أجرى فصله على نفس الجهاز فى نفس الوقت.

٢- حساب قيم الــ R_t (الوقت اللازم لخروج الحمض المفصول على الكروماتوجرام) ومقارنة هذه القيم فى العينة المجهولة بما يقابلها من قيم R_t قياسية من جداول قياسية تحت نفس ظروف الجهاز.

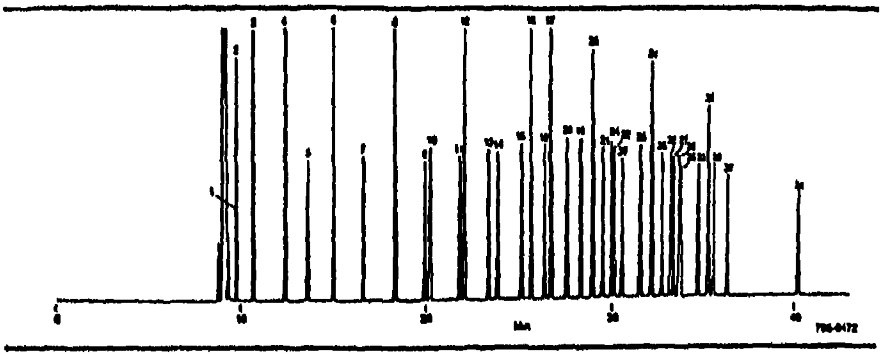
٣- لتقلــيل معدل الخطأ أثناء عملية الفصل يمكن حساب قيم الــ R_t ثم يختار حمض دهنى وهو حمض الأوليك $C_{18:1}$ وهو يوجد فى جمــيع الزيوت والدهون حيث يتخذ كمرجع Reference وتحدد

قيمة R_t لهذا الحمض ثم ينسب قيم R_t لباقى الأحماض المفصولة علـــى الكروماتوجرام إلى قيمة R_t للأوليك فينتج ما يعرف بقيمة RRT وجديـــر بالذكــر فإن قيم RRT المحسوبة تكون أقل من الواحد الصحيح فى حالة الأحماض الدهنية الأقل من طول السلسلة مـــن حمض الأوليك، وتساوى قيمة أكبر من الواحد الصحيح فى حالة الأحماض ذات طول سلسلة أكبر من حمض الأوليك.

ومن جداول قياسية تحت نفس ظروف الفصل الغازى يمكن مقارنة قيم RRT القياسية بما يقابلها من قيم الـــ RRT لكروماتوجرام العينة المجهولة وبالتالى يمكن التعرف على نوعية الأحماض الدهنية فى العينة.

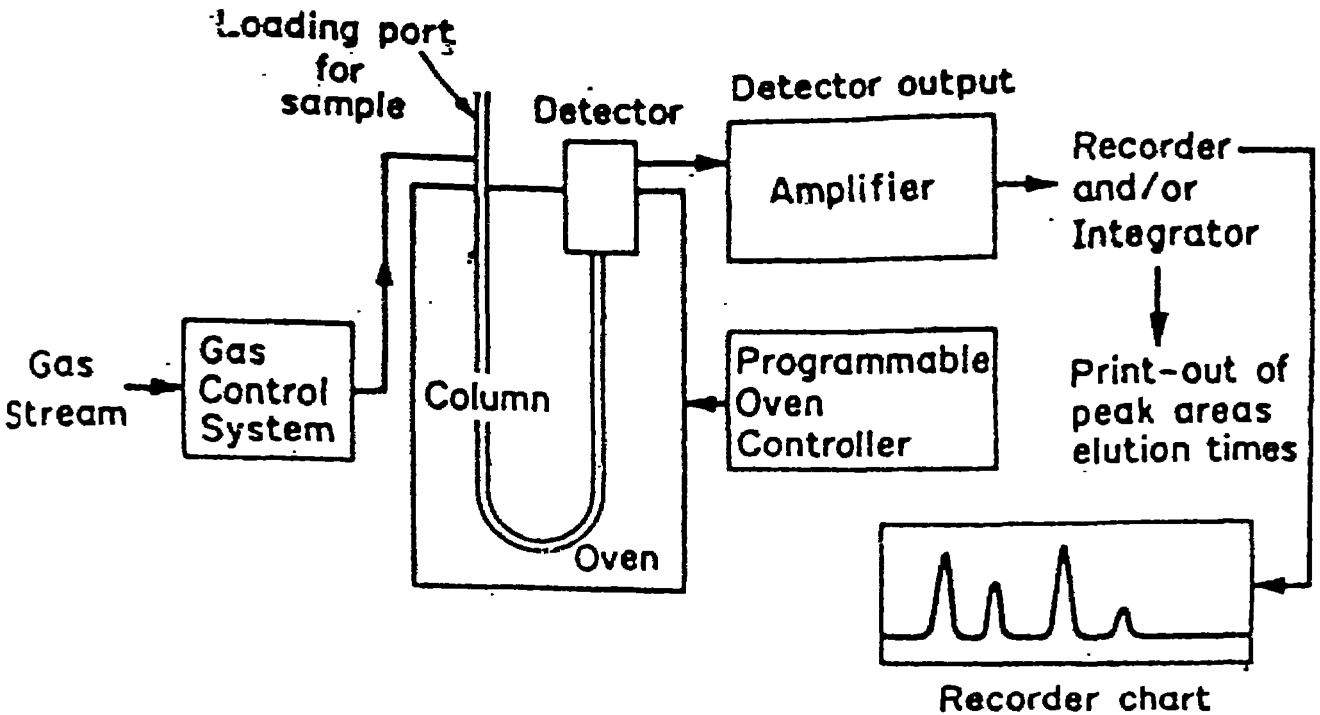
والشـــكل التالى رقم (١٩) يوضح كروماتوجرام لمخلوط إسترات ٣٧ حمضـــا دهنيا مفصولة بواسطة جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى وهذا الكروماتوجرام تم تعريفه فى الجدول .

كمـــا يوضح الشكل رقم (٢٠) تركيب جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى.



Peak ID	Component (Acid Methyl Esters)	Peak ID	Component (Acid Methyl Esters)
1	C4:0 (Butyric)	20	C18:2*n6t* (Linolelaidic)
2	C6:0 (Caproic)	21	C18:3*n6* (γ-Linolenic)
3	C8:0 (Caprylic)	22	C18:3*n3* (α-Linolenic)
4	C10:0 (Capric)	23	C20:0 (Arachidic)
5	C11:0 (Undecanoic)	24	C20:1*n9* (*cis*-11-Eicosenoic)
6	C12:0 (Lauric)	25	C20:2 (*cis*-11, 14-Eicosadienoic)
7	C13:0 (Tridecanoic)	26	C20:3*n6* (*cis*-8, 11, 14-Eicosatrienoic)
8	C14:0 (Myristic)	27	C20:3*n3* (*cis*-11, 14, 17-Eicosatrienoic)
9	C14:1 (Myristoleic)	28	C20:4*n6* (Arachidonic)
10	C15:0 (Pentadecanoic)	29	C20:5*n3* (*cis*-5, 8, 11, 14, 17-Eicosapentaenoic)
11	C15:1 (*cis*-10-Pentadecenoic)	30	C21:0 (Henicosanoic)
12	C16:0 (Palmitic)	31	C22:0 (Behenic)
13	C16:1 (Palmitoleic)	32	C22:1*n9* (Behenic)
14	C17:0 (Heptadecanoic)	33	C22:2 (*cis*-13, 16-Docosadienoic)
15	C17:1 (*cis*-10-Heptadecenoic)	34	C22:6*n3* (*cis*-4, 7, 10, 13, 16, 19-Docosa-hexaenoic)
16	C18:0 (Stearic)		
17	C18:1*n9c* (Oleic)	35	C23:0 (Tricosanoic)
18	C18:1*n9t* (Elaidic)	36	C24:0 (Lignoceric)
19	C18:2*n6c* (Linoleic)	37	C24:1*n9* (Nervonic)

شكل (١٩): كروماتوجرام لفصل استرات الاحماض الدهنيـــة بواســطة جــهاز الغــاز كروماتوجرافي وتعريف الأحماض الدهنية المفصولة .



شكل (٢٠): جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغـازى

فصل والتعرف على مكونات الليبيدات

Separation and identification of lipid classes

تستخدم كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer chromatography (TLC) فى فصل مشتقات ومكونات الليبيدات lipid classes حيث يتم تجهيز ألواح الطبقة الرقيقة معمليا، يغسل اللوح الزجاجى بمذيب عضوى حتى يكون خاليا من أى آثار لزيت أو دهن ومنعا لحدوث أى تلوث أثناء عملية الفصل، ثم يوضع اللوح أفقيا ويغطى بالتساوى بمحلول مائى لمادة الادمصاص adsorbent وهى عادة السيليكاجيل Silica gel ويضاف إليها أحيانا مادة لاصقة مثل كبريتات الكالسيوم لتزيد من القوة الميكانيكية لعملية الفصل. . تترك الألواح بعد ذلك فترة حتى تجف ثم تنشط على درجة حرارة ثابتة لمدة معينة وتكون معدة لعملية الفصل.

يحدد على اللوح بطريقة ظاهرية خطى البداية Base line والنهاية front line حيث يمثل خط البداية مكان وضع العينة المراد فصلها ويمثل خط النهاية نهاية مرحلة الإزاحة Elution لمذيبات الفصل. توضع العينة فى حدود ١٠ ٥٠ ميكروجراما فى نقطة مركزة cocentrated spot على خط البداية، ثم يوضع اللوح فى الإناء الزجاجى الخاص بعملية الفصل والذى يحتوى على مخلوط مذيبات الإزاحة elution solvent (ويجب أن يكون هذا الإناء مشبعا بأبخرة المذيب)، ثم يوضع اللوح داخل الإناء ويترك فترة ٢٠ ٦٠ دقيقة حتى يحدث Development حيث يصعد المذيب وتحدث إزاحة للمكونات المفصولة، ويجب ألا تتعدى عملية الإزاحة خط النهاية وعند انتهاء عملية الإزاحة ينزع اللوح من داخل الإناء ويجرى تجفيفه على درجة حرارة الغرفة، ثم يجرى إظهار detection للمكونات المفصولة ويتم ذلك بإحدى هذه الطرق:

١- التعريض لبخار يود حيث تظهر بقع بنية بينما تظهر الأرضية ذات لون أصفر.

٢- الرش بواسطة أحماض الفوسفوريك والكبريتيك أو مخلوط حمض الكبـــريتيك والكروميك حيث تحرق المواد العضوية وتظهر على هيئة بقع بنية فاتحة بالتسخين.

٣- الـــرش باســـتعمال محلـــول كحولـــى من مادة 2,6 dichloro fluoreseins التـــى تعطى بقعاً خضراء وأرضية بنفسجية اللون عند التعرض للأشعة فوق البنفسجية.

وبعـــد عملية الإظهار يمكن تحديد بقع المكونات المفصولة وهى تأخذ أشكالا مميزة لكل مكون عن الآخر.

وجديـــر بالذكـــر أن مخالـــيط المذيبات المستخدمة فى عملية الإزاحة والفصـــل علـــى الطـــبقة الرقيقة تختلف فى نسب المذيبات المكونة لها تبعا لنوعية المذيبات ودرجة القطبية، فقد يستخدم مخلوط من:

– 2) :20 :formic acid (80 :diethylether :hexane

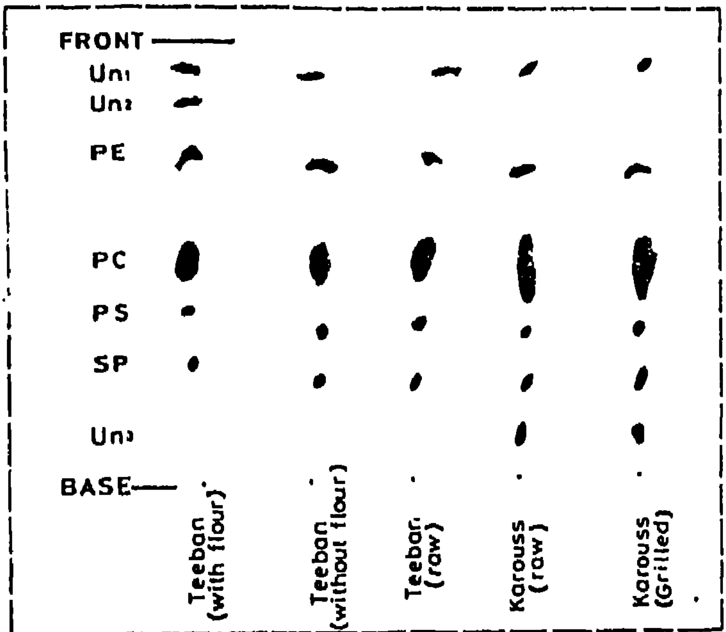
1) :10 :acetic acid (90 :diethylether :- pet.ether

4) :25 :water (65 :methanol :- Chloroform

وهكـــذا وتبعا لنوع وتركيب مخلوط مذيبات الإزاحة المستخدم تختلف قيم الـــ R_F على اللوح الزجاجى للمكونات المفصولة.

والشكل رقم (٢٠) يوضح نموذج لفصل مكونات الليبيدات على الطبقة الرقيقة.

ويمكـــن إيجـــاز الطرق المختلفة لتحليل الزيوت والدهون سواء لتقدير الخـــواص العامـــة الطبيعية والكيماوية أو كشف الأكسدة وتقديرها أو تقدير مـــدى الثـــبات التأكســـدى أو تحليل تركيب الزيوت والدهون أو تقدير مدى تدهور زيوت القلى على النحو التالى.



Thin layer chromatogram for phospholipid fractions of Teeban and Karouss fish.

PE = Phosphatidyl ethanolamine, PC = Phosphatidyl choline
PS = Phosphatidyl serine , SP = Sphingomyline
Un = Unknown .

شكل (٢٩): فصل الفوسفوليبيدات علي الطبقة الرقيقة TLC في ليبيدات ســـمك الثعبـــان والقاروص .

الطرق المختلفة لتحليل الزيوت والدهون

General analysis **تحليل الخواص العامة**

Refractive index, melting point, smoke point, flash point, fire point, cold test, cloud point, color, solid fat content, solid fat index, consistency, acid value, saponification value, Reichart-Meissl number, polenske number, kirschner number, unsaponifiable matter content, iodine value, viscosity.

Lipid oxidation detection **كشف وتقدير الأكسدة**

Peroxide value, anisidine value, thiobarbituric acid, Hexanal, totox value.

Lipid oxidation stability **قياس ثبات الأكسدة**

Schaal oven method, oil stability index (OSI), active oxygen method (AOM), oxygen bomb.

Lipid composition analysis **تحليل التركيب**

Lipid classes by TLC
Fatty acid composition by GLC
Oxidized fatty acid by enzymatic-GLC method
Phospholipid fractions by TLC
Unsaponifiable matter fractions by GLC
Phospholipid fatty acids composition by TLC-GLC

Frying oil deterioration **تدهور زيوت القلي**

Free fatty acids, peroxide value, iodine value, dien refractive index viscosity, color, carbonyls, TBA test, kries test, anisidine value, non-urea aduct forming esters, oxirane compounds, peteroleum ether insoluble oxidized fatty acids, total polar compounds, dietectric constant, polymeric compounds, alkaline contaminant material.

طرق الكشف عن دهن الخنزير فى الأغذية ومنتجاتها

Detection of lard in food products

توجد عدة طرق للكشف عن دهن الخنزير Lard فى الأغذية ومنتجاتها، تتلخص فيما يلى:

١- الاختبار الاحتمالى الوصفى.

٢- الكشف الميكروسكوبى.

٣- التحليل الكروماتوجرافى للأحماض الدهنية.

أولا: الاختبار الاحتمالى الوصفى Argentation TLC test

حيث يستخدم التحليل الكروماتوجرافى على الطبقة الرقيقة TLC باستخدام سليكاجيل مدعمة بنترات الفضة، ثم تجرى خطوات التحليل المعروفة (إزاحة بالمذيب العضوى إظهار لمناطق الفصل باستخدام الأشعة فوق البنفسجية .U.V مقارنة مناطق الفصل Bands فى العينات المختبرة).

وعند التحليل بهذه الطريقة فإن:

١- عينة الزيت النباتى يظهر بها ٦ مناطق فصل.

٢- عينة الزيت المهدرج يظهر بها ١٠ ١٢ منطقة.

٣- عينة الدهن الحيوانى البقرى يظهر بها ٣ مناطق.

٤- عينة دهن الخنزير بها يظهر ١٠ ١٢ منطقة.

ويعقب هذا الاختبار إجراء الكشف الميكروسكوبى للبلورات.

ثانيا: الكشف الميكروسكوبى Microscobic detecbion

حيث تذاب عينة الدهن تحت الاختبار فى مذيب عضوى (كحول إيثيل) ثم توضع فى الثلاجة فيحدث تبلور للدهن وتؤخذ عينات للفحص

الميكروسـكوبى كل ربع ساعة حتى الوصول إلى نقطة انصهار melting point فى مدى ٣٧ ٤٠.

وعيب هذه الطريقة هو تشابه شكل البللورات لدهن الخنزير مع شكل بللورات الزيوت المهدرجة نتيجة لظروف الضغط والحرارة، وهذا يقلل من الاعتماد على هذا الاختبار لكشف دهن الخنزير.

ثالثا: التحليل الكروماتوجرافى للأحماض الدهنية

Chromatographic analysis

وهـنا يـتم تحليل الأحماض الدهنية فى كل من الجليسيريدات الثلاثية Triglycerides وفى البيتا مونوجليسريد B- mono glycerides حيث لوحظ بالتحليل أن دهن الخنزير يحتوى على نسبة عالية من الحمض الدهنى البالمتيك Palmetic acid $C_{16:0}$ فى البيتا مونوجليسيريد.

ويـتم الإجـراء بعملـية فصـل الجليسـيريدات الثلاثية على العمود الكروماتوجرافى المعبأ بمادة السليكاجيل، ثم يتم تحليل الأحماض الدهنية فى جـزء الجليسـيريدات الثلاثـية المفصـولة وذلـك بواسطة جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى gas liquid chromatography.

يـؤخذ جـزء آخر من الجليسيريات الثلاثية المفصولة كروماتوجرافيا ويجـرى عليها تحليل إنزيمى بواسطة إنزيم ليبيز البنكرياس Enzymatic hydrolysis by pancreatic lipases وهـذا الإنزيم متخصص فى تحليل الرابطة α^-، α فى التراى جليسريد وليس له تأثير على الرابطة B وبالتالى يكون ناتج التحليل مركب البيتا مونوجليسريد. ثم يجرى فصل لهذا المركب بواسطة طريقة التحليل على الطبقة الرقيقة TLC، ثم يذاب هذا المركب بعد فصـله، ثم يجرى تحليل الأحماض الدهنية فى البيتامونوجليسريد المفصول بواسـطة التحليل الكروماتوجرافى الغازى. وهناك معادلات يمكن استخدامها للحكم على العينة المختبرة واكتشاف حالات الغش من عدمه:

١- إذا كانت $\frac{C16.BMG}{C16\ TG}$ أكبـــر مـــن ٠,٥ تعنـــي أن العيـــنة مغشوشة بدهن الخنزير بما يعادل ٥% أو أكثر

٢- إذا كانت $\frac{C16\ BMG}{C18\ BMG}$ تساوى ١-٢,٧ تكون العينة مغشوشة

٣- إذا كانت $\frac{\%Saturated\ acid}{\%Unsaturated\ acid}$ فى عينة الـ BMG تساوى ٠,٢-٠,٠٦ تكون العينة مغشوشة بدهن خنزير

٤- إذا كانت $\frac{\%Unsaturaded\ acid\ (BMG)}{\%Unsaturated\ acids\ (TG)}$ تساوى ٠,٩٥ فأقل تكون العينة مغشوشة

زيوت القلى Frying oils

إن عملـــيات قلـــى الأغذية تلقى اهتمام المختصين فى مجال الأغذية وتصنيعها نظرا للتغيرات التى تحدث فى زيوت ودهون القلى والتى لها تأثير على خواص وجودة الأغذية المقلية، هذا الاهتمام يتلاقى فى اعتبارين مهمين هما:

١- الاهـــتمام بالقيمة الغذائية للمنتج وجودته مع درجة الأمان للأغذية المقلية ذلك أنه من المحتمل تكوين مواد سامة أو ضارة كنتيجة لتعرض الزيت أو الدهن للحرارة والأكسوجين.

٢- التغيـــرات التـــى تحدث فى وسط القلى والتى تؤثر على الجودة الحسية للزيت أو الدهن وكذلك الأغذية المقلية فيه.

ويحــدث عــدد من التغيرات والتأثيرات فى الزيوت أو الدهون أثناء عملــية التســخين فى القلى العميق تتداخل فيها تأثيرات حرارية وتفاعلات أكسدة وتتلخص هذه التأثيرات فى:

الــتحلل Hydrolysis، الأكسدة Oxidation، البلمرة Polymerizahion، تكــوين اللــون Color formation، زيــادة اللزوجة Increased viscosity، تغيرات فى الطعم و الرائحة Changes in odor taste and flavour.

ومــن هــذا فإن الدراسات البحثية لا تزال تثير التساؤل عن درجات الأمــان للزيوت والدهون المسخنة وما مدى تأثير التسخين فى هدم مكونات الــزيت أو الدهن وإنتاج مركبات ذات خواص وصفات مضادة تغذويا. هذه المــركبات قد تكون مثبطات إنزيمية هادمة للفيتامينات نواتج أكسدة مــركبات مثيــرة للمعــدة والأمعــاء علاوة على أن التسخين الزائد يهدم الخــواص الحسية للأغذية المقلية من نكهة لون رائحة قوام مظهر عام، مما يؤثر على مدى القابلية للمستهلك بالنسبة لهذه الأغذية المقلية.

وتعتمد التفاعلات الكيميائية فى مداها على ظروف عملية القلى خاصة درجــة حرارة القلى مدة القلى مدى التعرض للأكسوجين نوع المادة الغذائــية المراد قليها إعداد المادة الغذائية لعملية القلى مثل تغطيتها بمواد تغطية (بقسماط)، محتواها من الرطوبة.

وجديــر بالذكــر فإنه يجب استبعاد أو تغيير زيت القلى فى الحالات الاتية:

١- زيادة مدة القلى مما يسبب تكون رغوة متزايدة.
٢- ميل زيت القلى إلى التدخين الزائد.
٣- ظهور نكهة ورائحة غير مرغوبة.
٤- ظهور لون داكن فى الزيت.

وتجــدر الإشــارة إلى أن عملية قلى الأغذية تتداخل فيها عمليتا نقل الكــتلة mass transfere والانــتقال الحرارى Heat transfer، فالرطوبة الموجودة بالمادة الغذائية يحدث لها هجرة من داخل المادة الغذائية إلى الجدار وتفقد من السطح الخارجى للمادة الغذائية نتيجة التسخين و التجفيف بالحرارة. وقــد اســتخدم اصــطلاح pumping of water أى دفع الرطوبة وإنه من

المناسب استخدام حسابات انتقال الكتلة لا شتقاق الظاهرة الأولية لكل الأغذية والتـــى تعـــتمد على أساس معدل فقد الرطوبة بالإضافة إلى السهولة النسبية لهجرة الرطوبة أثناء تجفيف النسيج الأسفنجى ومن الجدر للمادة الغذائية هـــذه الظواهـــر تفســر امتصــــاص المادة الغذائية لزيت القلى خلال النسيج الأســـفنجى محـــل الرطوبة المفقودة. وتلعب الرطوبة عدة أدوار فى الانتقال الحـــرارى فهـــى تحمـــل الطاقة الحرارية من زيت القلى الساخن إلى الغذاء المحيط.

ولقـــد فسرت الدراسات البحثية للعالم Morton عام ١٩٧٧ التأثيرات والتفاعلات غير المرغوبة وكذا التغيرات المرئية ذلك أن وجود الرطوبة بالمادة الغذائية وعند إجراء القلى وتساقط المادة الغذائية فى زيت القلى يحدث تحلل للجليسريدات الثلاثية إلى جليسريدات ثنائية وأحادية، وتنفرد الأحماض الدهنية الحرة free fatty acids، كما أنه يمكن بتأثير الحرارة والأكسوجين تأكســـد الدهـــون وتكـــون هيدرواوكســـيد وأحماض دهنية وكيتونات، وهذه المـــركبات تتكسر إلى مركبات صغيرة، كما يحدث لبعض نواتج الأكسدة أن تفقـــد مع البخار المتكون أثناء القلى، فى حين أن الجزء الآخر غير المتطاير لنواتج الأكسدة يتبقى فى القلاية مشجعا حدوث عمليات أكسدة جديدة للزيت، وتزداد معدلات الأكسدة بارتفاع درجة حرارة القلى، كما توجد عوامل أخرى بجانب الحرارة والأكسوجين تؤثر على معدل الأكسدة، وهذه تشمل:

١- مساحة سطح الزيت المعرض للأكسوجين.
٢- مدى وجود معادن تشجع عملية الأكسدة مثل النحاس.
٣- مـــدى وجود مضادات أكسدة تتحمل درجات الحرارة العالية مثل مثيل سيليكون Methyle silicone والتى تقاوم الأكسدة.
٤- جودة زيوت القلى المستخدمة.
٥- معدل استبدال زيت القلى بزيت طازج.

وجديـــر بالذكر أنه لكى يبقى مستوى أكسدة زيت القلى عند أقل معدل فإنـــه مـــن المهم استخدام زيت قلى عالى الجودة حفظ درجة حرارة القلى منخفضة ما أمكن متابعة معدل استبدال زيت القلى بزيت طازج تجنب

تلــوث الأوانـــى المســتخدمة فى القلى بالمعادن   ترشيح الزيت والتخلص المنتظم من بقايا الغذاء المقلى.

الأكســدة المتــزايدة غالـــبا مـــا تكون مصحوبة بحدوث عملية بلمرة polymerization وعند تسخين الزيوت أو الدهون أثناء عملية القلى العميق فإن نواتج هدم مختلفة تتكون، وبعض هذه النواتج تكون متطايرة volatile ولهـــا اســـتجابة نسبية فى تكوين البوليمر، وهذه المركبات المتطايرة تشمل البيروكسيدات   الجليسريدات الأحادية   الجليسريدات الثنائية   الألدهيدات الكيتونات   الأحماض الكربوكسيلية   بينما الجزء الآخر من نواتج الهدم يكـــون فـــى صورة غير متطايرة non volatile وهذه تشمل المركبات القطبـــية   الأحمـــاض الدهنية الأحادية المحلقة وغير الحلقية   ومركبات أخرى مرتفعة الوزن الجزيئى، وهذه المركبات تتفاعل وتكون مركبات عالية الـــوزن الجزيئى (بوليمرات) مثل الصموغ والتى تظهر عادة على جوانب القلايـــات كـــذلك يؤدى تكوين البوليمر إلى حدوث الرغوة والتى تظهر فى صـــورة فقاعـــات تتصـــاعد ببطء إلى جوانب القلاية، وفى حالة زيادة هذه الرغوة يجب استبعاد زيت القلى لأنه أصبح غير صالح لعملية القلى ويصبح ضار بالصحة. ويتوقف تفاعل رطوبة المادة الغذائية مع زيت القلى على عدة عوامل:

١- كمـــية الرطوبة المتحررة إلى زيت القلى من المادة الغذائية. حيث يزداد معدل تحلل الزيت بزيادة كمية الرطوبة.
٢- درجـــة حـــرارة القلى حيث يزداد معدل انفراد الأحماض الدهنية الحرة بزيادة درجة الحرارة أثناء عملية القلى.
٣- معـــدل اســـتبدال الزيت، حيث يقل معدل انفراد الأحماض الدهنية الحرة بزيادة معدل استبدال زيت القلى بآخر طازج.
٤- عدد مرات تسخين وتبريد زيت القلى.
٥- كمية بقايا الأغذية المراد قليها والمتبقية فى زيت القلى بعد انتهاء عملية القلى.

ومـــن المعـــروف أن الأغذيـــة تحـــتوى على سكريات   نشويات   بـــروتينات   فوســـفات   مـــركبات كبريتية   معادن   والتى تتجمع فى

زيـــوت القلـــى أثـــناء عملـــية قلى الأغذية، ويتغير اللون إما نتيجة التأثير الحـــرارى أو تفاعل هذه المكونات مع زيت القلى مما يسبب اغمقاق اللون. وبتوالـــى عملـــية القلى وتغير لون الزيت يتبع ذلك تغير لون المواد الغذائية المقلـــية، كما أن الغذاء المقلى يأخذ مظهرا غير مرغوب ولونا باهتا وغير متســـاو فى المادة الغذائية، ويختلف معدل تكوين اللون باختلاف نوع المادة الغذائـــية فى عملية القلى، فمثلا قلى البطاطس يقل فيها معدل التلون عن قلى الـــدجاج نظـــرا لأن الدجاج يحتوى على بروتينات تسرع من معدل التفاعل والـــتلون بالمقارنـــة بالـــبطاطس التى تحتوى على نشا، كذلك تغطية المادة الغذائية عند القلى يشجع من التلون والذى يتغير إلى اللون البنى.

وجديـــر بالذكر فإن زيادة معدل استبدال زيت القلى بزيت طازج يقلل من التلون.

طرق تقدير جودة زيوت القلى

لقـــد بذلت جهود كثيرة من الباحثين لدراسة التغيرات التى تحدث أثناء عملية القلى للأغذية وتقدير جودة كل من زيوت القلى والأغذية المقلية، حيث تم وضع عدة طرق فى هذا المجال كذلك دراسة تأثير طريقة القلى المستمر والمـــتقطع (دفعـــات)، وكـــذا تأثيـــر نوع الزيت ودرجة الحرارة وتأثير مضـــادات الأكســـدة كمواد مضافة لتحسين درجة ثبات الزيت المستخدم فى القلى ضد عمليات الأكسدة .

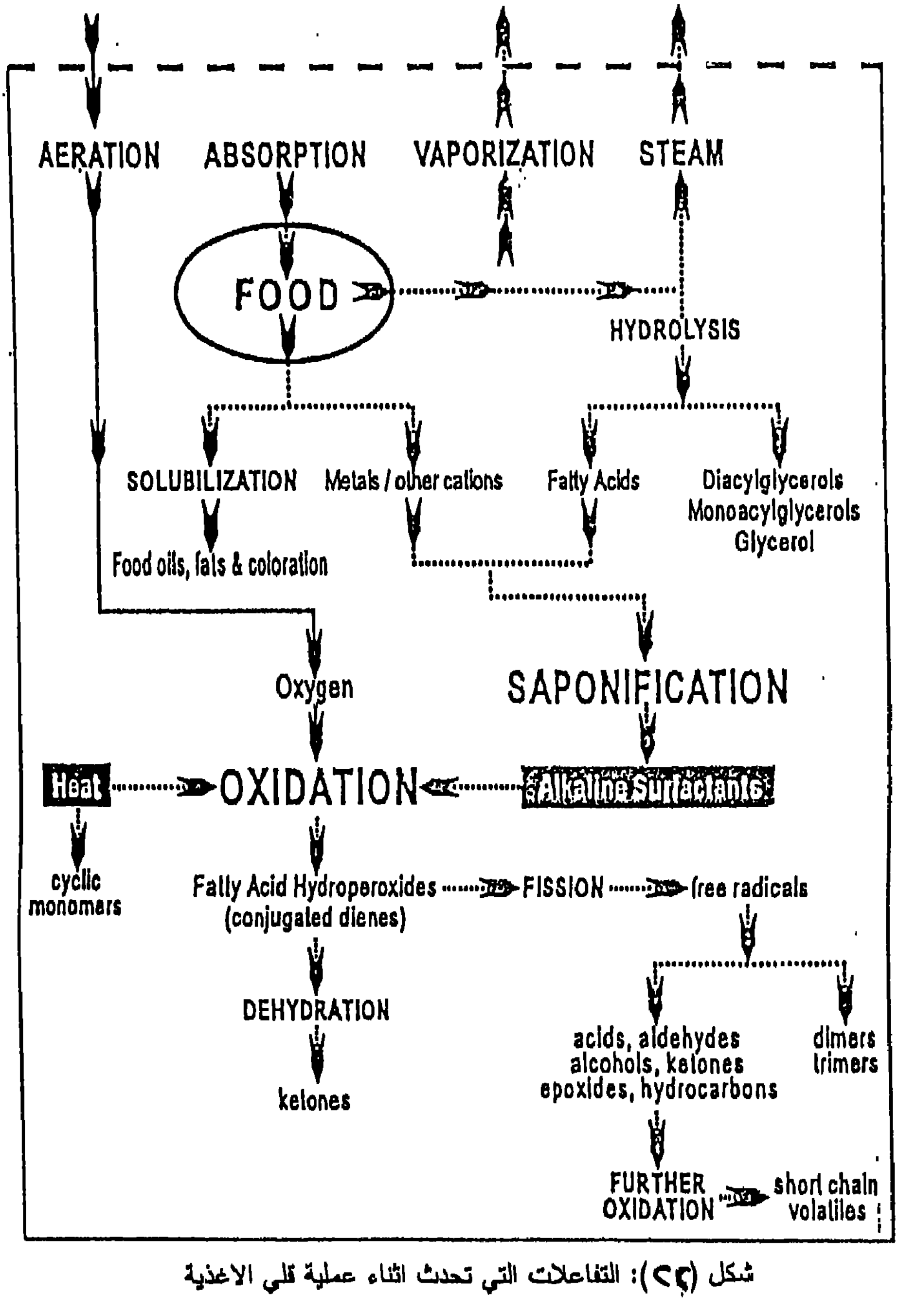
وكمـــا ذكـــر فيما قبل إن بعض نواتج الهدم بتأثير عملية القلى تكون عبارة عن مركبات متطايرة والتى تتصف بما يلى:

١- إن هذه المركبات دلالة علي التفاعلات الكيميائية التى تحدث أثناء عملية القلى مثل الأكسدة الحرارية والأكسدة الذاتية.

٢- إن هذه المركبات تستنشق بواسطة العامل الذى يقوم بعملية القلى.

٣- بعض هذه المركبات تظل فى زيت القلى ويمتصها الغذاء.

٤- إن هذه المركبات تؤثر على الرائحة والنكهة للغذاء المقلى وبالتالى تؤثر على الخواص الحسية ومدى القبول العام له.



شكل (٣): التفاعلات التي تحدث اثناء عملية قلي الاغذية

ولهـــذا فإنـــه من الأهمية بمكان دراسة وتقدير هذه المركبات وتحليلها وتحديـــد مســـتوى الجـــودة لعملية القلى. ويمكن تقسيم التغيرات التى تحدث لزيوت القلى إلى تغيرات طبيعية وتشمل:

زيادة اللزوجة، التلون، تكون الرغوة، تغيرات فى الرائحة والنكهة.

تغيرات كيميائية وتشمل:

زيـــادة الأحمـــاض الدهنـــية الحـــرة، زيـــادة رقم الكربونيل، زيادة محتوى الأيدروكسيل، انخفاض درجة عدم التشبع، زيادة المواد عالية الوزن الجزيئى البوليمر.

ويمكـــن تلخيص الطرق المستخدمة فى تقدير جودة زيوت القلى فيما يلى:

أولا: تقدير المركبات القطبيه Polar compounent

أوضـــح عديد من الباحثين طريقة سهلة ودقيقة لتقدير المحتوى الكلى مـــن المـــركبات القطبـــية، وقـــد اعتبرت هذه الطريقة من الطرق القياسية لمجمـــوعة IUPAC، ١٩٨٧، ASAC عام ١٩٨٤، وتتلخص الطريقة فى إذابة وزنـــة مقدارها ٢,٥ جرام من الزيت أو الدهن فى مخلوط مذيبات من بتروليوم اثير / داى اثييل اثير بنسبة ٨٧: ١٣ ثم إزاحة هذا المخلوط خلال عمـــود نشط من السليكاجيل الذى يقوم بدوره بإدمصاص المركبات القطبية. بعد التبخير للمذيب المزاح وحساب المتبقى بالكأس ينتج وزن المركبات غير القطبـــية، وبالتـــالـــى يمكن حساب المركبات القطبية بإيجاد الفرق بين وزن العيـــنة الأصلية من الزيت أو الدهن ووزن المركبات غير القطبية. أو يمكن إزاحة المركبات القطبية من العمود الكروماتوجرافى بواسطة داى ايثيل اثير ثـــم إيجـــاد وزنهـــا بعد إجراء تبخير. ولقد اقترح مستوى تركيز ٢٧% من المركبات القطبية كحد أعلى لاستبعاد الزيت من عملية القلى، والعيب الوحيد لهـــذه الطريقة هو طول الزمن اللازم لإجراء التقدير والذى يقدر بنحو ٣,٥ ساعة للعينة الواحدة.

ثانيا: تقدير الأحماض الدهنية ذات الروابط المتبادلة على السلسلة

عندما تتأكسد الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع فإنه يحدث هجرة للروابط الزوجية وتنتج أحماض دهنية متبادلة الروابط يمكن تقديرها بواسطة القياس في مجال الأشعة فوق البنفسجية على طول موجي ٢٣٢، ومن الملاحظ أن قيمة الامتصاص تزداد في البداية ثم باستمرار عملية القلي تثبت القيمة، وهذا مرتبط بالتوازن أو الاتزان في معدل تكوين الأحماض الدهنية زوجية الروابط والمتبادلة مع معدل تكوين البوليمر المتكونة من تفاعل ديلز الدر.

ويعتبر هذا القياس مفيداً في تقدير التأثير السيئ للحرارة على الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع للزيوت ولكنه أقل ملائمة للدهون التي تتصف بانخفاض صفة عدم التشبع.

ثالثا: تقدير نسبة الأحماض الدهنية $C_{18:2}$: $C_{16:0}$

يتم تحليل الأحماض الدهنية لزيت القلي خلال عمليات القلي وتسجل التغيرات الحادثة في تركيب الأحماض الدهنية. ويلاحظ الارتفاع النسبي للأحماض الدهنية المشبعة وانخفاض نسبة أحماض اللينوليك واللينولينيك مع انخفاض نسبة الحمض لـ ١٨: ٢ (الليتوليك) بمتسوى أقل نسبيا بمقدار ٧ ١١% بالمقارنة بالانخفاض في مستوى الليتولينيك والذي يصل إلى ٢٧ ٤٦%. ويعطي تقدير نسبة لـ ١٨: ٢ إلى لـ ١٦: صفر علاقة جيدة عن تأثير التسخين على زيت القلي بالمقارنة مع نتائج الاختبارات الأخرى.

رابعا: تقدير الثابت الكهربي Delectric constant

وهو اختبار سريع التقدير لدرجة هدم زيوت القلي خلال عملية قلي الأغذية. حيث مع عملية القلي يزداد رقم الجزئيات القطبية والتي تزيد مباشرة قيمة الثابت الكهربي، والاختبار مفيد ولكن يعاب عليه أن القيم وأداء الجهاز يتأثر بعدة عوامل خارجية مثل نسبة الرطوبة أو الدهن المستخلص من المادة الغذائية والمقلية، كما أن الزيوت الطازجة تختلف في قيمة الثابت الكهربي، ولهذا فإنه يجب مراعاة معايرة الجهاز في كل مرة تشغيل، وعموما فإن الأحماض الدهنية عالية درجة التشبع لها قيمة ثابت كهربي أقل

عن تلك عالية عدم التشبع. و هناك جهاز Food oil sensor (FOS) و الذى يقــوم بتقديــر قيمة الثابت الكهربى فى زيوت ودهون القلى بالنسبة لمثيلتها الطازجة. و لقد اقترح أن قيمة ٤ لقراءة جهاز FOS يجب عندها أن يستبعد الزيت أو الدهن من عملية القلى.

خامسا: اختبار RAU - Test

هــذا الاختــبار قامت بتصميمه شركة E.Merle الألمانية تحت اسم اختبار Oxifrit Test و هو اختبار لونى يستخدم فيه جوهر كشاف يتفاعل مــع المــواد المتأكسدة فى عينة الزيت أو الدهن وتطور اللون فى العينة المختبرة يمكن مقارنته بأربعة مستويات لونية على النحو الاتى:

عيــنة جــيدة لا زالت العينة جيدة عينة متوسطة الجودة عينة مرفوضة.

و العيب الوحيد لهذه الطريقة أنها تحتاج لمخلوط مذيبات عضوية قابلة للاشتعال مما تكون مصدر خطورة إذا أجريت التجربة بجوار القلاية.

سادسا: اختبار الـــ Fritest

هــذا الاختــبار لونــى حساس لمجاميع الكربونيل ويقارن لون العينة المختبرة بثلاث درجات ألوان قياسية على النحو الاتى:

عينة جيدة مقبولة عينة متوسطة عينة مرفوضة.

سابعا: اختبار Spot - Test

هذا الاختبار لونى قام بوصفه العالم Robern & Gray عام ١٩٨١ ولإجــراء هذه الطريقة بوضع نقطة زيت مختبر على شريحة زجاجية عليها طــبقة ســليكاجيل محتوية على دليل بروموكريزول جرين كدليل حموضة وقلــوية، و هــذا الاختــبار يختبر محتوى الأحماض الدهنية الحرة فى عينة الــزيت كدلالــة علــى التزنخ التحللى وتتدرجة ألوان الدليل من الأزرق الأخضــر الأصفر. كدلالة على درجة الـــ pH أى مدى تكون الحموضة الناشئة عن تحرر الأحماض الدهنية الحرة.

ثامنا: تقدير البوليمر Polymers

استخدمت طـريقة ptal , peled عام ١٩٧٥ مع بعض التعديلات البسيطة وتتلخص الطريقة فيما يلى:

يضاف ١ جرام زيت إلى ١٢٥ مل ميثانول يحتوى على ١% حمض كبـريتيك. يسـخن المخلوط للغليان باستخدام مكثف عاكس لمدة ٢ ساعة ثم يبـرد لدرجة حرارة الغرفة. يرشح بعد ذلك ثم تغسل ورقة الترشيح بواسطة الميـثانول حتـى إزالـة اثار حمض الكبريتيك. تذاب المركبات الغير قابلة للـذوبان والموجودة على ورقة الترشيح بواسطة ٢٥ مل بترووليوم ايثير، ثم تـنقل إلى دورق سابق وزنه ثم يبخر المذيب فى تيار من النيتروجين حتى ثبات الوزن ويقدر وزن البوليمر بعد ذلك وحساب النسبة المئوية.

تاسعا: تقدير المواد القلوية الملوثة

Alkaline contaminant Materials (ACM)

وفـيها يجـرى تحليل على العمود الكروماتوجرافى سليكاجيل لفصل المـواد عالية القطبية والتى تتضمن مركبات ACM باستخدام الميثانول ثم يبخر المذيب فيتبقى ACM فى قاع الدورق جافا، يتم غسل ACM بنسبة ١ : ١ اسيتون وتتدرج الألوان من الأخضـر إلى الأزرق اعتمادا على تركيز الـ ACM. يتم بعد ذلك تقدير نسبة ACM وغسل هذه المركبات باستخدام الاسـيتون ثم يتم التبخير على لوح من بروميد البوتاسيوم وناتج الإظهار هو صابون مثل صوديوم أوليات. ولقد وجد أن نسبة ٤٣ جزءاً فى المليون من ACM يستبعد عندها الزيت من عملية القلى.

الفيتامينات في الأغذية
Vitamins

الفيتامينات مركبات منخفضة الوزن الجزيئي نسبيا توجد في الأغذية بتركيزات صغيرة يحتاجها جسم الإنسان بمستويات قليلة حيث إنها تلعب دورا هاما في أنشطة الجسم وتقوم بوظائف حيوية مهمة. ولا يستطيع جسم الإنسان أن يكون معظم الفيتامينات ولذا فإنه يحصل عليها من الغذاء على أن يتم تعويض النقص عن طريق مركزات الفيتامينات.

وجدير بالذكر فإنه عند نقص مستوى أي فيتامين بالجسم يؤدي ذلك إلى ظهور حالات مرضية، فيؤدي نقص فيتامين ج إلى الإصابة بالإسقربوط Scurvy بينما نقص فيتامين النياسين يؤدي إلى البلاجرا Pellagra ونقص فيتامين د يؤدي إلى لين العظام، وهكذا الفيتامينات تعمل كعوامل نمو ويعبر مستوى الفيتامينات في الأغذية المختلفة عن القيمة التغذوية ومدى استيفاء تلك الأغذية الاحتياجات المطلوبة من هذه الفيتامينات.

كما توجد بعض الفيتامينات في الأغذية بصور أولية ليست بفيتامينات وإنما تتحول داخل جسم الإنسان إلى فيتامينات، ومثال ذلك الكاروتينات التي تتحول إلى فيتامين أ. تسمى هذه الصور الأولية بـ Provitamins.

وتقوم بعض الفيتامينات كمكونات لمرافقات الإنزيمات Coenzymes تلعب دورا مهما في عمليات التمثيل الغذائي كما يتأثر العديد من الفيتامينات بكثير من المعاملات التكنولوجية والتخزين مثل تأثير الحموضة والـ pH والأكسوجين الضوء الحرارة.

وجدير بالإشارة إلى أن تناول الفيتامينات بجرعات تزيد عن الحاجة تؤدي إلى ظهور أعراض سمية على جسم الإنسان.

وتقسم الفيتامينات إلى مجموعتين من حيث قابليتها للذوبان هما:

المجموعة الأولى:

مجموعة الفيتامينات القابلة للذوبان فى الماء Water soluble vitamins

وتشمل فيتامين ج أو حمض الأسكوربيك Ascorbic acid ومجموعة فيتامينات ب المركبة وتشمل فيتامين ب١ $Vitamin\ B_1$ أى الثيامين Thiamin فيتامين ب٢ $Vitamin\ B_2$ أى الريبوفلافين Riboflavin فيتامين ب٦ $Vitamin\ B_6$ أى البيريدوكسين pyridoxine النياسين Niacin فيتامين ب١٢ $vitamin\ B_{12}$ أى السيانوكوبلامين Cyanocobalamine حمض الفوليك Folic acid أى الفولاسين Folacin حمض البانتوثنيك pantothenic acid البيوتين Biotin.

المجموعة الثانية:

مجموعة الفيتامينات القابلة للذوبان فى الدهون Fat soluble vitamin

وتشمل فيتامين "أ" vitamin A أى الريتنول Retinol فيتامين د vitamin D فيتامين هـ vitamin E أى التوكوفيرول Tocopherols فيتامين ك vitamin K.

والجدول رقم (٥٠) يوضح محتوى بعض الأغذية ومنتجاتها من الفيتامينات. كما أن الجدول رقم (٥١، ٥٢) يبين الاحتياجات اليومية من الفيتامينات فى المراحل العمرية المختلفة، بينما الجدول رقم (٥٣) يوضح الخواص الفيزيقية للفيتامينات المختلفة.

ثبات الفيتامينات vitamin stability

من الأمور المهمة لاستخدام الفيتامينات كمضافات لتدعيم الأغذية يجب الإلمام بمدى تأثير الفيتامينات بالظروف المختلفة المحيطة بتصنيع وتخزين الأغذية، وعموما فإن الفيتامينات القابلة للذوبان فى الماء تعتبر أقل ثباتا بالنسبة للأكسدة والعوامل المسببة، ولذا لا بد من عدم تعرضها للحرارة الأكسوجين أيونات المعادن الأشعة فوق البنفسجية، كما تستخدم المواد

المضـــادة للأكســـدة لهـــذا الغرض لحماية الفيتامينات من الأكسدة. وتعتبر فيتامينات A، E أكثر ثباتا.

ويوضـــح الجـــدول رقـــم (٥٤) درجة ثبات الفيتامينات المختلفة فى الظروف المختلفة لتصنيع وتخزين الأغذية.

كمـــا يوضح جدول رقم (٥٥) مقدار الفقد فى المحتوى من الفيتامينات المختلفة فى بعض الأغذية كنتيجة لتأثير عملية التعليب canning.

ويشير الجدول رقم (٥٦) إلى تأثير العمليات التكنولوجية المختلفة فى تصنيع وطهى الأغذية على ثبات الفيتامينات.

جدول (٥٠): محتوي بعض الاغذية من الفيتامينات

Food product	Caro-tene mg	A mg	D ug	E mg	K mg	B_1 mg	B_2 mg	NAM mg	PAN mg	B_6 mg	BIO ug	FOL ug	B_{12} ug	C Mg
Milk and milk products														
Bovine milk, raw	0.018	0.030	0.06	0.09		0.04	0.18	0.09	0.35	0.05	3.5	6.0	0.4	1.7
Human milk	0.024	0.054	0.05	0.52	0.003	0.02	0.04	0.17	0.21	0.01	0.6	5.0	0.05	4.4
Butter	0.38	0.59	1.3	2.2	0.06	0.005	0.02	0.03	0.05	0.005				0.2
Cheese														
Camembert (60% fat)		0.63				0.04	0.37	1.18	0.7	0.2	2.8			
Camembert (30% fat)	0.1	0.2	0.17	0.30		0.05	0.67	1.2	0.9	0.3	5.0	66	3.1	
Eggs														
Chicken egg yolk		1.12		3.0		0.29	0.40	0.07	3.7	0.3	50	130	2.0	0.3
Chicken egg white						0.02	0.32	0.09	0.14	0.012	7	16	0.1	
Meat and meat products														
Beef,whole carcass,lean						0.08	0.18	4.9		0.5		20	1.3	
Calf liver		3.92	0.33	1.2	0.15	0.28	2.61	15.0	7.9	0.9	80	240	60	35
Chicken liver		11.6	1.3	0.4		0.32	2.49	11.6	7.2	0.8		380	20	28
Fish and fish products														
Herring		0.04	30	1.5		0.04	0.22	3.8	0.9	0.5	4.5	5	8.5	0.5
Eel		0.98	13	8		0.18	0.32	2.6	0.3			13	1	1.8
Cod-liver oil		30	330	3.26										
Cereals and cereal products														
Wheat, whole kernel	0.02			3.2		0.48	0.14	5.1	1.2	0.4	6	49		
Wheat flour, type 405				2.3		0.06	0.03	0.7	0.2	0.2	1.5	10		
Wheat germ				27.6	0.35	2.01	0.72	4.5	1.0	3.3	17	520		
Wheat gluten				9.1	0.08	0.65	0.51	17.7	2.5	2.5	44	400		
Rye whole kernel				3.8		0.35	0.17	1.8	1.5	0.3	4.6	42		
Corn whole kernel	0.37			5.8	0.04	0.36	0.20	1.5	0.7	0.4	6	26		
Oat flakes				3.7		0.59	0.15	1.0	1.1	0.16	20	24		
Rice, unpolished				4.5		0.41	0.09	5.2	1.7	0.68	12	16		
Rice, polished				0.4		0.06	0.03	1.3	0.6	0.15		29		

تابع جدول (٥٠): محتوي بعض الأغذية من الفيتامينات

Food product	Carotene mg	A mg	D ug	E mg	K mg	B mg	B₂ mg	NAM mg	PAN mg	B₆ mg	BIO ug	FOL ug	B₁₂ ug	C mg
Vegetables														
Watercress	2.6					[illegible]	0.17	0.7						5?
Mushrooms, cultivated,	0.01		1.94	[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.44	5.2	2.1	0.07	2.0	2?		4.9
Chicory	1.29					[illegible]	0.05	0.24		0.05	59			10.2
Endive	1.14					0.05	0.12	0.4			5?			9.4
	3.9					0.07	0.08	0.4						35
Kale	4.?					[illegible]	0.25	2.1		0.3	0.5	6?		105
Potatoes	0.01			0.06		0.11	0.5	1.2	0.4	0.2	0.4	7		17
Kohlrabi	0.2					0.05	0.05	1.8	0.1	0.1				63.3
Head lettuce	0.8			0.4	0.2	0.06	0.08	0.3	0.1	0.06	1.9	40		13
Lentils, dried	0.1			1.3		0.43	0.26	2.2	1.4	0.6		40		
Carrots	12			0.7	0.08	0.07	0.05	0.6	0.3	0.1	5	8		7.1
Brussels sprouts	0.4			1.1	0.6	0.11	0.14	0.7		0.3	0.4	80		114
Spinach	4.2			2.5	0.4	0.11	0.23	0.6	0.3	0.22	6.9	80		52
Tomatoes	0.82			0.49	0.63	0.06	0.04	0.5	0.3	0.1	4	40		24.2
White cabbage	0.04			0.02		0.05	0.04	0.3	0.3	0.1		80		45.8
Fruits														
Orange	0.09			0.24		0.08	0.04	0.3	0.2	0.05	2.3	20		50
Apricot	1.8			0.5		0.04	0.05	0.8	0.3	0.1		4		9.4
Strawberry	0.05			0.22	0.02	0.03	0.05	0.5	0.3	0.06	4	20		64
Grapefruit	0.02			0.27		0.05	0.02	0.24	0.25	0.03	0.4	10		44
Rose hips														1.250
Red currants	0.04			0.21		0.04	0.03	0.23	0.06	0.05	2.6			36
Black currants	0.14			1.0		0.05	0.04	0.28	0.4	0.08	2.4			177
Plums	0.2			0.8		0.07	0.04	0.4	0.2	0.05	0.1	2		5.4
Sea buckhorn	1.5					0.03	0.21	0.3	0.2	0.11	3.3	10		450

المصدر : Belitz and Grosch (1999)

جدول (٥١): الاحتياجات اليومية من الفيتامينات القابلة للذوبان في الدهون

Age (years) or condition	Vitamin A (ug)	Vitamin D (ug)	Vitamin E (ug)	Vitamin K (ug)	Vitamin C (mg)
Infants					
0-0.5	375	7.5	3	5	30
0.5-1	375	10	4	10	35
Children					
1-3	400	10	6	15	40
4-6	500	10	7	20	45
7-10	700	10	7	30	45
Males					
11-14	1000	10	10	45	50
15-18	1000	10	10	65	60
19-24	1000	10	10	70	60
25-50	1000	5	10	80	60
51+	1000	5	10	80	60
Females					
11-14	800	10	8	45	50
15-18	800	10	8	55	60
19-24	800	10	8	60	60
25-50	800	5	8	65	60
51+	800	5	8	65	60
Pregnant	800	10	10	65	70
Lactating					
0-6 months	1300	10	12	65	95
6-12 months	1200	10	11	65	90

المصدر: Land (1988)

جدول (٥٢): الاحتياجات اليومية من الفيتامينات القابلة للذوبان في الماء

Age (years) or condition	Thiamin (mg)	Riboflavin (mg)	Niacin (mg)	Vitamin B_6(mg)	Folate (ug)	Vitamin B_{12}(ug)
Infants						
0-0.5	0.3	0.4	5	0.3	25	0.3
0.5-1	0.4	0.5	6	0.6	35	0.5
Children						
1-3	0.7	0.8	9	1.0	50	0.7
4-6	0.9	1.1	12	1.1	75	1.0
7-10	1.0	1.2	13	1.4	100	1.4
Males						
11-14	1.3	1.5	17	1.7	150	2.0
15-18	1.5	1.8	20	2.0	200	2.0
19-24	1.5	1.7	19	2.0	200	2.0
1.5	1.5	1.7	19	2.0	200	2.0
51+	1.2	1.4	15	2.0	200	2.0
Females						
11-14	1.1	1.3	15	1.4	150	2.0
1.1	1.1	1.3	15	1.5	180	2.0
19-24	1.1	1.3	15	1.6	180	2.0
25-50	1.1	1.3	15	1.6	180	2.0
51+	1.0	1.2	13	1.6	180	2.0
Pregnant	1.5	1.6	17	2.2	400	2.2
Lactating						
0-6 months	1.6	1.8	20	2.1	280	2.6
6-12 months	1.6	1.7	20	2.1	280	2.6

المصدر: Lund (1988)

جدول (٥٣) الخواص الفيزيقية للفيتامينات

Vitamin	Vitamers	MW	Solubility		Absorption	Melting	Color/form
			Org.	H_2O	Maximum (nm)	point (°C)	
Vitamin A	Retinol	286.4	+	-	325	62-64	Yellow crystal
	Retinal	284.4	−	-	373	61-64	Orange crystal
	Retinoic acid	300.4	+	sl	351	180-182	Yellow crystal
Vitamin D	Vitamin D_2	396.6	−	-	265	115-118	White crystal
	Vitamin D_3	384.6	−	-	265	84-85	White crystal
Vitamin E	α-Tocopherol	430.7	+	-	294	2.5	Yellow oil
	γ-Tocopherol	416.7	+	-	298	-2.4	Yellow oil
Vitamin K	Vitamin K_1	450.7	−	-	242,248,260,269,325		Yellow oil
	Vitamin $K_{2\,35}$	549.2	−	-	243,248,261,270,325-328	54	Yellow crystal
	Vitamin K_3	172.2	−	-		105-107	Yellow crystal
Vitamin C	Free acid	176.1	-	333	245	190-192	White crystal
	Sodium salt	198.1	-	620	245	218	White crystal
Thiamin	Disulfide form	562.7	-	sl		177	Yellow crystal
	Hydrochloride	337.3	-	1000			White crystal
	Mononitrate	327.4	-	27		196-200	White crystal
Riboflavin		376.4	-	0.33	220-225,266,371,444,475	278	Orange-yellow crystal
Niacin	Nicotinic acid	123.1	-	16	263	237	White crystal
	Nicotinamide	122.1	-	1000	263	128-131	White crystal
Vitamin B_6	Pyridoxal	167.2	-	500	293	165	White crystal
	Pyridoxol-HCl	205.6	-	220	255,326	160	White crystal
Biotin	d-Biotin	144.3	-	0.4		167	White crystal
Pantothenic acid	Free acid	219.2	-	vs			Clear oil
	Calcium salt	176.5	-	356		195	White crystal
Folate	Monoglutamate	441.1	-	0.0016	256,283,368	250	Orange-yellow crystal
Vitamin B_{12}	Cyanocobalamin	1355.4	-	12.5	278,361,550	>300	Red crystal

المصدر: Lund, 1988

جدول (٥٤): ثبات الفيتامينات

Vitamin	Vitamer	Unstable to:						To enhance stability
		UV	Heat	O_2	Acid	Base	Metals	
Vitamin A	Retinol	+		+	+		+	Keep in the dark, sealed
	Retinal			+	+		+	Keep sealed
	Retinoie acid							Good stability
•	Dehydrorctinol			+				Keep scaled
	Retinyl esters							Good stability
	β-Carotene	+		+				Keep in the darkm sealed
Vitamin D	Vitamin D_2	+	+	+	+		+	Keep cool, in thde dark,.selaed
	Vitamin D_3	+	+	+	+	+	+	Keep cool, in thde dark,.selaed
Vitamin E	Tocopherol		+	+	+	+	+	Keep cool,at neutral pH
	Tocopherol esters				+	+		Good stability
Vitamin K	K	+		+		+	+	Avoid reductants
	MK	+		+		+	+	Avoid reductants
	Menadione	+				+	+	Avoid reductants
Vitamin C	Ascorbic acid			+		+	+	Keep sealed, at neutral pH
Thiamin	Disulfide form		+	+	+	+	+	Keep at neutral pH
	Hydrochloride		+	+	+	+	+	Keep sealed, at neutral pH
Riboflavin	Riboflavin	+	+			+	+	Keep in the dark, at pH 1.5-4
Niacin	Nicotinic acid							Good stability
	Nicotinamide							Good stability
Vitamin B_6	Pyridoxal	+	+					Keep cool
	Pyridoxol-HCl			+		+		Good stability
Biotin	Biotin			+		+		Keep sealed, at neutral pH
Pantothenic acid	Free acid/	+		+		+		Cool, neutral pH
	Calcium salt		+					Keep sealed, at pH 6-7
Folate	FH_4	+	+	+	+		+	Good stability
Vitamin B_{12}	Cyano-B_{12}	+			+		+	Good stability

المصدر : Lund (1988)

جدول (٥٥): مقدار الفقد من الفيتامينات خلال تعليب بعض الاغذية

Food	Vitamin A	Vitamin C	Thiamin	Riboflavin	Niacin	Vitamin B_6	Biotin	Pantothenic acid	Folate
Asparagus	43	54	67	55	47	64	0		75
Lima bean	55	76	83	67	64	47		72	62
Green bean	52	79	62	64	40	50		60	57
Beet	50	70	67	60	75	9		33	80
Carrot	9	75	67	60	33	80	40	54	59
Corn	32	58	80	58	47	0	63	59	72
Mushroom		33	80	46	52		54	54	84
Green pea	30	67	74	64	69	69	78	80	59
Spinach	32	72	80	50	50	75	67	78	35
Tomato	0	26	17	25	0		55	30	54

المصدر : Lund (1988)

جدول (٥٦): تأثير مفاعلات تصنيع الأغذية علي ثبات الفيتامينات

Vitamin	Conditions that enhance loss
Vitamin A	Highly variable but signficant losses during storage and preparation
Vitamin D	(Stable to normal househld procedures)
Vitamin E	Frying can result in losses of 70-90%, bleaching of flour destroys 100%, other losses preparation or baking are small
Vitamin K	(Losses not significant due to synthesis by intestinal microflora)
Vitamin C	Readily lost by oxidation and/or extraction in many steps of food preparation, heat sterization, drying, and cooking
Thiamin	Readily lost by leaching, by removal of thiamin-rich fractions from native foods (e.g. flemilling) and by heating; losses as great as 75% may occur in meats, and 25-37% in bread.
Riboflavin	Readily lost on exposure to light (90% in milk exposed to sunlight for 2 hr, 30% free milk exposed to room light for day), but very stable when stored in dark; small loss (12-25%) on heating during cooking.
Niacin	Leached during blanching of vegetables (<40%), but very stable to cooking.
Pyridoxine	Leached during food preparation; pasteurization causes losses of 67%; roasting of becauses losses of about 50%
Biotin	(Apparently very stable; limited data)
Pantothenic acid	Losses of 60% by milling of flour and of about 30% by cooking of meat; small losses vegetable preparation
Folate	(Data not available)
Vitamin B_{12}	Only small losses on irradiation of milk by visible or ultraviolet light

المصدر: Lund (1988)

الطرق العامة لتقدير الفيتامينات فى الأغذية

تنقســم طرق تقدير الفيتامينات فى الأغذية ومنتجاتها إلى ثلاثة أقسام رئيسية هى:

أ طرق حيوية Bioassay methods

وهــذه الطرق تسمى طرق قياس النمو والتى تعتمد على تقدير الزيادة فــى أوزان حــيوانات الــتجارب، على اعتبار أن هذه الزيادة هى استجابة للتغذية على وجبات تحتوى على تركيزات مختلفة من الفيتامين المراد قياسه وفــى نفس الوقت المقارنة بوجبات خالية تماما من الفيتامين، ويحدد التركيز الــلازم لاخــتفاء أعــراض نقص الفيتامين. وهذه الطريقة تحتاج إلى وقت طويل.

ب- الطرق الميكروبيولوجية Microbiological methods

يتشابه أساس هذه الطرق مع أساس الطرق الحيوية فى تقدير الفيتامين حيث تستخدم كائنات حية دقيقة ويقاس معدل النمو الميكروبى كمؤشر لتركيز الفيتامين. ويتخذ تقدير العكارة فى البيئة كمقياس وكدالة للنمو الميكروبى.

ويمكن عمل منحنى قياسى بإضافة تركيزات معينة من الفيتامين المراد قياســه إلى بيئة النمو الميكروبى ثم تقدير نسبة العكارة Turbidity ورسم العلاقة بين العكارة (دالة النمو) مع تركيز الفيتامين. وبمقارنة قيمة العكارة للعينة المجهولة يمكن التعرف على تركيز الفيتامين فى هذه العينة.

ج الطرق الفيزكيميائية Physicochemical methods

وهذه الطرق تعتمد على الخواص الفيزيائية مثل امتصاص الضوء فى منطقة الأشعة فوق البنفسجية أو المنطقة المنظورة من الطيف أو تعتمد على تفاعل كيماوى خاص بهذا الفيتامين. وتتلخص هذه الطرق فيما يلى:

١- الطرق الوميضية fluormetric methods

حــيث يحــدث تفاعل بين الفيتامين أو نواتج أكسدته مع صبغة معينة مكــونا مركباً يتصف بصفة الوميض fluorosence ثم قراءة شدة الوميض

بواسطة جهاز fluorometer ثم تقدير تركيز الفيتامين المراد قياسه مثال ذلك أكسدة حمض الأسكوربيك (فيتامين ج) وارتباط ناتج الأكسدة مع صبغة ارثوفنيلين داى أمين معطيا مركبا له صفة الوميض.

٢- الطرق الإنزيمية Enzymatic methods

حيث يستخدم إنزيم معين لفيتامين محدد مثل إنزيم اسكوربيك اسيداوكسيديز فى تفاعله مع حمض الأسكوربيك فيحدث تفاعل أكسدة واختزال ثم قياس تركيز نواتج التفاعل ومن المنحنى القياسى يمكن تعيين تركيز الفيتامين، ويمكن قياس نواتج التفاعل بقياس الامتصاص الضوئى O. D على طول موجى معين.

٣- الطرق اللونية Colorimetric methods

تعتمد هذه الطرق على إحداث تفاعل كيماوى بين الفيتامين المراد قياسه مع مركب كيماوى، فيكون ناتج التفاعل ذا لون يمكن قياس شدة هذا اللون على طول موجى معين فى جهاز الاسبكتورفوتوميتر Spectrophotometr.

٤- طرق المعايرة الكيماوية Chemical titration methods

وتبنى هذه الطرق على أساس استخدام تفاعلات نوعية متخصصة لكل فيتامين وتحديد نقطة التعادل فى هذه التفاعلات ثم باستخدام معادلات رياضية يمكن تقدير تركيز الفيتامين. مثال ذلك تقدير فيتامين ج عن طريق معايرة صبغة ٦،٢ داى كلوروفينول اندوفينول مع حمض الاسكوربيك (تفاعل أكسدة واختزال).

٥- الطرق الوزنية Gravimetric methods

وتعتمد هذه الطرق على ترسيب الفيتامين وتجفيفه ثم تقدير الوزن المعبر عن وزن الفيتامين. مثال ذلك ترسيب الثيامين بواسطة حمض التنجستوسلسيك Tungstosilicic acid.

٦- الطرق البولاروجرافية polarographic methods

حيث يجرى التحليل باستخدام الكترود والذى يظهر صفات الموجة عند جهـــد نصــــف المـــوجة ويختلف ارتفاع الموجة تبعا للـــ pH وتبعا لتركيز الفيتامين.

٧- الطرق الكروماتوجرافية Chromatographic methods

مثل استخدام جهاز HPLC فى تقدير فيتامين د.

جدول رقم(٥٧): الطرق العامة لتحليل الفيتامينات

Method	**Vitamins determined**
HPLC[a]	Vitamins A, D, E, and K, riboflavin, thiamin, pantothenic acid, niacin, folic acid, vitamin B_6, biotin
TLC[b]	Vitamins A, D, E, and K, thiamin, riboflavin, vitamin B_6, biotin, vitamin C
Mass spectroscopy	Most vitamins
Radioimmunoassay	Folate, vitamin B_{12}, vitamin D metabolites
Chemical colorimetry	Vitamins A, D, E, and K
Microbiological assay	Thiamin, riboflavin, vitamin B_6, vitamin B_{12}, folate, pantothenic acid, biotin, niacin.

a: HPLC, High-performance liquid chromatography.
b: TLC, Thin-layer chromatography.

أولا: الفيتامينات القابلة للذوبان فى الماء Water soluble vitamins

١- فيتامين ج Vitamin C أو حمض الأسكوربيك Ascorbic acid

يسمى فيتامين ج بحمض الأسكوربيك وكيميائيا فإن رمزه البنائي L-3-keto- threo hexuronic acid γ- lacton. والفيتامين يوجد فى الخلايا النباتية والحيوانية غالبا على الصورة الحرة كما أنه من المحتمل أن يرتبط بالبروتينات ويوجد الفيتامين بوفرة فى العنب الأحمر والأسود الفراولة البقدونس الموالح الليمون الطماطم الكرنب البطاطس، وتعتبر الخضراوات والفاكهة المصدر الأساسى لفيتامين ج.

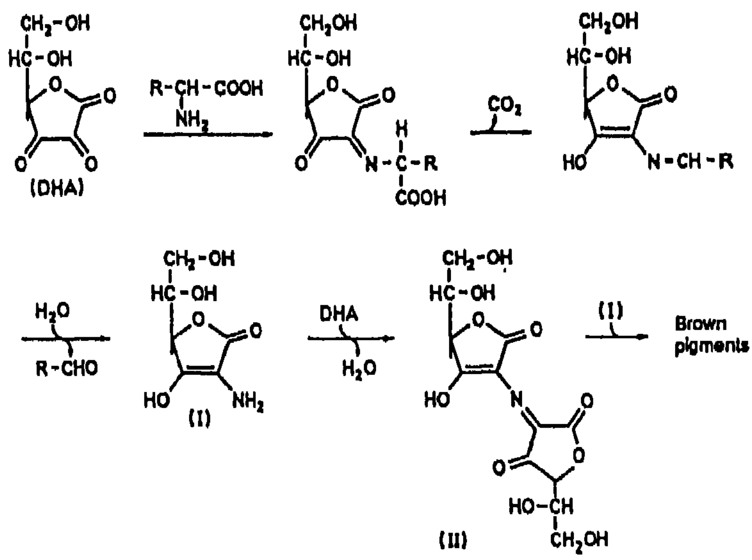
ويتأثر فيتامين ج بالمعاملات التكنولوجية والتخزين ويزداد معدل الهدم للفيتامين بوجود المعادن مثل النحاس والحديد أو تأثير الإنزيمات المؤكسدة أو التعرض للأكسوجين أو الحرارة أو الضوء. ولقد وجد أن معدل الفقد فى الفيتامين يصل إلى ٧٠% بتخزين الخضراوات كما أن معدل الفقد أثناء التخزين يتوقف على درجة حرارة التخزين حيث تصل نسبة الفقد إلى ٥٥% عند التخزين على درجة ١٢°م بينما تصل إلى ١٠% فقط عند التخزين على درجة حرارة ٢٩°م كما أن عمليات نقع الخضراوات تؤدى إلى فقد الفيتامين بنسبة تصل الى ٧٠ ٨٠%.

وتبلغ الاحتياجات اليومية لفيتامين ج حوالى ٤٥ ٨٠ ملجرام ويعتبر تركيز الفيتامين فى بلازما الدم بنحو ٠,٤ ملجرام لكل ١٠ مل دلالة على عدم كفاية الفيتامين كما أن أعراض نقص فيتامين ج أو حمض الأسكوربيك يؤدى إلى ظهور أعراض مرض الأسقربوط Scurvy.

وحمض الأسكوربيك يتميز باحتوائه على مجموعة ثنائية الهيدروكسيل حامضية وترجع الصورة الحامضية إلى تأين ذرتي الهيدروجين فى مجموعة Enediol على ذرتى الكربون ٢، ٣ ويؤدى ذلك إلى اختفاء الصفة الاختزالية فى تفاعلات الأكسدة والاختزال، كما أن انفصال البروتونات من ذرتى الكربون ٢، ٣ يعطى الصفة الحامضية.

حمــض الأســكوربيك ســهل التأكسد إلى حمض ديهيدرو إسكوربيك Dehydroascorbic acid والــذى يــوجد فـــى وســط مائى هيمى كيتال hydrated hemiketal، ويفقــد الفيتامين نشاطه الحيوى عندما تصبح حلقة اللاكــتون فى حمض ديهيدرواسكوربك متحولة إلى ٣,٢ داى كيتو جلونيك أسيد 2,3 diketo gulonic acid. ويتوقف أكسدة حمض الأسكوربيك إلى ديهيدروأسكوربيك أسيد، وكذا نواتج الهدم على عدة عوامل منها الأكسوجين درجة الحرارة رقم حموضة الوسط ايونات المعدن الثقيلة.

وجديــر بالذكــر فإن وجود الأحماض الأمينية وحمض الأسكوربيك وحمــض ديهيدروأسكوربيك ونواتج الهدم يمكن إن تتداخل فى تفاعل ميلارد Maillard browning reactions كما موضح كما فى الشكل (٢٣):



شكل (٢٣): تفاعلات ميلارد في وجود حمض الاسكوربيك .

كمـــا ذكرنا سالفا فإن فيتامين ج أو حمض الأسكوربيك سهلة التأكسد ولـــذا يجـــب أخذ الاعتبارات اللازمة للمحافظة على الفيتامين وعدم تعرضه للأكســدة، ويـــتم اســتخلاص فيتامين ج من العينة الغذائية بواسطة حمض الميثافوســفوريك أو حمــض الأكساليك لتثبيط الإنزيمات المؤكسدة وترسيب البروتينات ويعتبر كفاءة حمض الميثافوسفوريك أعلى من حمض الأكساليك فى عمليات الاستخلاص.

ويمكن تقدير فيتامين ج بعدة طرق يمكن إيجازها فيما يلى:

تقدير فيتامين ج بطريقة المعايرة Titration method

تعـــتمد هذه الطريقة على أساس تفاعل أكسدة واختزال ما بين حمض الأسكوربيك الذى يتأكسد إلى حمض ديهيدروأسكوربيك بواسطة صبغة ٦,٢ داى كلوروفيـــنول انـــدو فينول التى تختزل وتتحول إلى مركب عديم اللون حتـــى تنتهى كل كمية حمض الأسكوربيك الموجودة، فنجد أن أول نقطة من الصـــبغة بعـــد ذلك يتحول لونها إلى اللون الوردى تدل على انتهاء التفاعل يمكث ١٠-١٥ ثانية فى الدورق.

ملحوظة: لون صبغة ٦,٢ داى كلوروفينول اندوفينول يكون أزرق فى الوسط القاعدى ويكون اللون وردياً فى الوسط الحامض.

ويمكـــن إجـــراء معيارة لحجم معين (١٠ مل) من محلول قياسى من حمض الأسكوربيك (٠,٢٥ جرام أسكوربيك / ١٠٠ مل حمض أكساليك) بواسطة محلول الصبغة المحضر والمراد تقدير قوتها يحسب حجم الصبغة الـــلازم لمعايـــرة حجم ١٠ مل من حمض الأسكوربيك وتحسب قوة الصبغة كما يلى:

$$\text{قوة الصبغة} = \frac{\text{وزن حمض الأسكوربيك} \quad ٠,٠٢٥ \times ١٠}{\text{حجم الصبغة (مل)} \times ١٠٠}$$

وتعـــرف قوة الصبغة بأنها كمية حمض الأسكوربيك التى تكافئ واحد مل من الصبغة.

حساب تركيز فيتامين ج:

ملجرام أسكوربيك / ١٠٠ جرام من العينة =

$$\frac{\text{قوة الصبغة} \times \text{حجم الصبغة (مل)} \times \text{معامل التخفيف} \times ١٠٠}{\text{وزن العينة الغذائية (جرام)}}$$

تقدير فيتامين ج بالطريقة اللونية Spectrophotometric

يمكن تقدير فيتامين ج بالطريقة اللونية وذلك فى حالة الأغذية الملونة مثل البنجر الأحمر والفراولة، حيث يستخلص فيتامين ج من العينة كما سبق ثم يؤخذ ١ مل من مستخلص العينة ويضاف إليها ٩ مل من محلول الصبغة وتقـرأ الكـثافة الضوئية على طول موجى ٥٤٥ نانوميتراً ولتكن القـراءة O.D.s. فـى أنبوبة أخرى تؤخذ ١ مل حمض أكساليك ويضاف إليها ٩مل صـبغة ثـم تقرأ الكثافة الضوئية على نفس طول الموجة ولتكن القراءة O.D.1

∴ الكثافة الضوئية للعينة = O.Ds   O.D1

يجـرى عمـل منحنـى قياسى بتحضير تركيزات مختلفة من حمض الأسـكوربيك ومـن كل تركيز يؤخذ ١ مل ثم يضاف لكل أنبوبة ٩ مل من الصـبغة، ثـم يـتم قراءة الكثافة الضوئية لكل أنبوبة ومع الاستعانة بأنبوبة مقارنة عبارة عن ١ مل حمض أكساليك + ٩ مل صبغة وتسجيل قيم الكثافة الضـوئية لهذه التركيزات. ترسم العلاقة بين تركيزات حمض الأسكوربيك وقيم الكثافة الضوئية.

مـن هـذا المنحنى يمكن تقدير فيتامين ج للعينة المطلوبة بتوقيع قيمة الكثافة الضوئية لها على المنحنى وبالتالى معرفة تركيز الفيتامين المقابل.

تقدير فيتامين ج بطرق الوميض Fluorometric method

يـتم أكسـدة حمض الأسكوربيك إلى Cis-dehydro ascorbic acid الـذى يرتبط مع مركب اورثوفنيلـين داى أمين O-phenylene diaminc

منتجا مركبا له صفة الوميض Fluorescent quinoxalime compound.
وتتلخص الطريقة فيما يلى:

يـؤخذ وزنة من العينة ويمزج جيدا مع محلول حمض ميتافوسفوريك وحمض خليك (١٥ جرام ميتاسفوريك ١ : ٤٠ مل حمض خليك / ٥٠٠ مل مـاء مقطـر) يرشح وبسرعة الاستخلاص يفضل إجراء الطرد المركزى. ينقل ٥ مل من المترشح إلى دورق معيارى سعة ١٠٠ مل يحتوى على ٥مل حمض بوريك (لتلافى تداخل وجود حمض البيروفيك من العينة مع التجربة معطـيا مركبا له أيضا وميض) يترك لمدة ١٥ دقيقة مع التقليب. ينقل ٢ مـل من المحلول السابق فى أنبوبة اختبار (تجرى هذه الخطوة ليكون عدد الأنابـيب ثلاثـا). يضـاف فى كل أنبوبة ٥ مل من محلول مائى لصبغة اورثوفنيلـين داى امين ثم المزج جيدا ويترك ٣٥ دقيقة على درجة حرارة الغـرفة. يقاس شدة الوميض باستخدام جهاز Fluorimeter فى وجود وفى عدم وجود حمض اليوريك (البلانك).

تقدير فيتامين ج بالطرق الإنزيمية Enzymatic mehtod

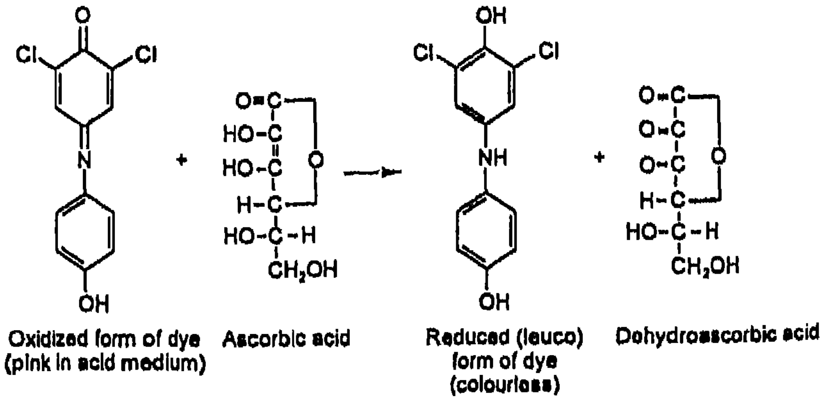
وتعـتمد هـذه الطرق على استخدام إنزيم أسكوربيك أسيد اكسيديز أو بيروكسـيديز لأكسدة حمض الاسكوربيك ثم قياس قيمة الكثافة الضوئية على طول موجة ٣٢٠ نانوميترا ويقاس زمن التفاعل الذى يصل إلى قيمة الكثافة الضوئية ٢ والذى يكون دلالة على تركيز فيتامين ج فى العينة.

تقدير فيتامين ج بطرق البولاروجرافية Polarographic

وهـذه الطـريقة أقـل حساسـية وعرضة للخطأ نظرا لتداخل المواد المختزلة، على الرغم من أنها طريقة متخصصة وسهلة التقدير وأفضل مدى من الـ pH هو ما بين ٣ ٦.

٢- فيتامين ب١ (الثيامين) Vitamin B_1 (Thiamin)

الثيامـين يـوجد فـى صورة بيروفوسفات ويعتبر مرافق إنزيم لعدة إنـزيمات مهمـة مـثل إنزيمات إزالة مجموعة الكربوكسيل من الأحماض الكيتونية ألفا.



Oxidized form of dye
(pink in acid medium)
Ascorbic acid
Reduced (leuco)
form of dye
(colourless)
Dehydroascorbic acid

وإنزيم بيروفات ديهيدروجينيز pyruvate dehydrogenase. وإنزيم ترانس كيتوليز transketolase وإنزيم فوسفو كيتوليز phosphoketolase وإنزيم الفاكتيوجلوتارات ديهيدروجينز ketoglutarate dehydrogenase.

ويسبب نقص الثيامين انخفاض نشاط الإنزيمات المذكورة سلفا وبالتالى انخفاض الوظائف الحيوية المترتبة عليها. كذلك ظهور أعراض مرض البرى برى Beri Beri ذات التأثير العصبى والقلبى. وتتراوح الاحتياجات اليومية للإنسان البالغ من ١ ٢ ملجرام، ويؤخذ تقدير نشاط إنزيم ترانس كيتوليز فى خلايا الدم الحمراء كدلالة على كفاية الوجبة الغذائية من الفيتامين. ويوجد الثيامين فى كثير من النباتات فهو يوجد فى القشرة الخارجية وجنين الحبوب خلايا الخميرة الخضراوات مثل البطاطس الفاكهة اللحوم الأسماك البيض وفى الأعضاء الحيوانية مثل الكبد المخ الكلى.

وجدير بالذكر فإن عملية نخل الدقيق ومعاملات الأرز يؤدى إلى إزالة معظم الفيتامين ويتأثر الفيتامين بالحرارة الأكسوجين الكبرتة رقم الـ pH المتعادل أو القلوى حيث تؤدى إلى تحطمه. والفيتامين ثابت فى الوسط الحامضى.

الجواهر النيكولفيلية القوية strong nucleophilic reagents مثل مجاميع ^{-}OH , $HS\ O^{-}_{3}$ تسبب هدم سريع للفيتامين. ويؤدى التأثير الحرارى على الثيامين إلى تكوين الروائح الشبيهة برائحة اللحم فى الأغذية المطبوخة.

ويوضح الجدول رقم (٥٨) نسب الفقد فى الثيامين خلال التخزين على درجات حرارة مختلفة.

جدول رقم (٥٨): نسب الفقد من الثيامين أثناء تخزين الأغذية

Food	*Thiamine loss, %*	
	1.5°C	*38°C*
Apricots	28	65
Orange juice	0	22
Peas	0	32
Green beans	24	92
Tomato juice	0	40

ويثبط نشاط الثيامين بفعل النيتريت أيضا كما أن العوامل المؤكسدة القوية مثل فوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 أو حديدى سيانيد البوتاسيوم تؤدى الى تكوين مركبات ذات وميض. وجدير بالذكر فإن الثيامين يفقد بنحو ١٥ ٢٥% في الخضراوات أو الفاكهة المعلبة المخزنة لأكثر من عام، وتصل نسبة الفقد إلى ٦٠% فى اللحم المطهى تحت الظروف المنزلية اعتمادا على درجة حرارة الطهى والتجهيز. وتصل إلى ٢٠% فى محاليل التخليل وفى الخبز الأبيض، ١٥% فى الكرنب المسلوق، وكما ذكر فإنه لا يحدث هدم للثيامين فى المنتجات الحامضية مثل عصائر الليمون.

تقدير فيتامين الثيامين بطريقة قياس الوميض وهى تسمى بطريقة الثيوكروم Thiochrome وتتلخص الطريقة فيما يلى:

تعتمد الطريقة على تقدير وقياس الوميض للمركب المتأكسد المتكون من الثيامين وهو الثيوكروم Thiochrome. وتتم الأكسدة بواسطة حديدى سيانيد البوتاسيوم فى وسط قلوى، والثيوكروم مركب أصفر يحتوى على كبريت ويولد وميضا عند تعرضه للأشعة البنفسجية.

توزن العينة ثم يضاف حمض أيدروكلوردريك ويمزج جيدا ويسخن على درجة ١٢١°م لمدة ١٥ دقيقة ثم يبرد. يضبط رقم الـ pH إلى ٤,٥ - ٥

بواسـطة حمض يد كل ثم يضاف محلول الإنزيم ويحضن على درجة ٤٥ ٥٠ْم لمدة ٣ ساعات ثم تبرد العينة ويضبط الـــ pH إلى ٣,٥ ثم يرشح.

يضـــاف حديـــدى سيانيد البوتاسيوم لتحويل الثيامين إلى ثيوكروم ثم يضـــاف كحول ايسوبيوتيل مع الرج جيدا والطرد المركزى تفصل طبقة الكحـــول ويـــتم قياس شدة الوميض على طول موجة ٣٦٥، ٤٣٥ نانوميترا وتجـــرى تجـــربة بلانـــك. تجرى التجربة على محلول قياسى ويقاس شدة الوميض ويحسب تركيز الثيامين كما يلى:

تركيز الثيامين بالميكروجرام ٪ = (شدة الوميض للعينة الكحولية   شدة الوميض فى البلانك) / (شدة الوميض فى المحلول القياسى   شدة الوميض للبلانك)

٣- فيتامين الريبوفلافين (ب٢) Riboflavin (vitnmin B_2)

ويعتبـــر الريبوفلافين مرافق لإنزيمات الفلافين والتى لها أهمية كبيرة فى عمليات التمثيل الغذائى خاصة ميتابلزم البروتينات. ونقص الريبوفلافين يـــؤدى إلى تراكم الأحماض الأمينية كذلك نقص نشاط إنزيم glutathione reductase فـــى خلايا الدم الحمراء. ويحتاج الشخص البالغ يوميا ١,٦ ٢,٦ مليجـــرام. وتـــدل قيم أعلى من ٨٠ ميكروجرام ريبوفلافين لكل جرام كـــرياتين علـــى الوضـــع الطبيعـــى للفيتامـــين، بينما القيمة من ٢٧ ٢٩ ميكروجـــرام لكـــل جرام تعتبر منخفضة والقيمة أقل من ٢٧ ميكروجرام / جـــرام تعبـــر عن نقص شديد للفيتامين فى الوجبة. ويعتبر اللبن ومنتجاته البـــيض الخضراوات الخميرة منتجات اللحوم والكبدة والكلية والقلب والأسماك من أهم مصادر الريبوفلافين.

والـــريبوفلافين ثابت نسبيا فى معاملات التداول العادية للأغذية وثابت ضد الحرارة الجافة والوسط الحامض ضد المواد المؤكسدة، وغير ثابت فى الوسط القاعدى فى منطقتى الضوء المنظور والأشعة فوق البنفسجية.

ويمكن تقدير الريبولافين بعدة طرق نكتفى بإيجاز إحداها وهى طريق قياس شدة الوميض Fluorometric method وتتلخص فيما يلى:

يضــــاف محلــول حمض هيدروكلوريك ٠,١ ع إلى وزنة مناسبة من العينة المتجانسة ثم يمزج جيدا ويسخن على درجة ١٢١م لمدة ٣٠ دقيقة ثم يبرج، يتم ترسيب المواد المتداخلة فى التقدير وذلك بضبط رقم الــ pH إلى ٦,٠ ثـم يعاد ضبط الــ pH مرة أخرى إلى رقم ٤,٥ ثم تجفف المحتويات بالماء المقطر ويرشح.

يؤخذ ١٠ مل من الراشح السابق فى أنبوبة اختبار (تكرر ذلك لعدد ٤ أنابيب). يضاف ١ مل من ماء معطر إلى أنبوبتين من الأربع أنابيب السابقة ويضاف ١ مل من محلول قياس من الريبوفلافين (تركيز ٠,٥ ميكروجرام / ١ مل) إلى كل من الأنبوبتين. يضاف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الأربع ١ مــل مــن حمــض خلــيك ثلجى ثم ٠,٥ مل من محلول ٣% برمنجنات بوتاسيوم (لإجراء عملية الأكسدة). يترك فترة حوالى دقيقتين ثم يضاف ٠,٥ مل من محلول ٣% فوق أكسيد أيدروجين مع المزج جيدا.

يـتم قياس شدة الوميض للأنابيب المضاف إليها ماء مقطر على طول مــوجة ٤٤٠ نانوميتــرا (قــراءة A) ثــم يضاف ٢٠ ملجرام صوديوم هيدروسلفيت ويتم قياس شدة الوميض وتكون القراءة (C) على نفس طول المــوجة. بيـنما يــتم قــياس شدة الوميض للأنابيب المضاف إليها محلول الــريبوفلافين القياســى علــى طول موجة ٥٦٥ نانوميترا بنفس الخطوات السابقة ويتم الحصول على القراءة (B).

يمكن حساب تركيز الريبوفلافين من المعادلة التالية:

ملجرام ريبوفلافين / جرام عينة = [illegible]

٤ - فيتامين النياسين أو حمض النكوتنيك أميد Niacin (Nicotinamide)

يعمــل النياســين فــى صــورة نكوتنامــيد أدنــين داى نيكلوتــيد nicotinamide adnine dinucleotide (NAD)، أو فــى الصــورة المفســفرة NADP، كمــرافق Coenzyme لإنــزيمات الديهيدروجينــز Dehydrogenase. ويفــرز النياسين فى البول على صورة مثيل نكوتناميد N - methylinicotiamide، مثيل ٦ بيريدون ٣ كربوكسى أميــد

N-methyl 6- pyridone 3- carboxani، مثيل ٤- بيريدون ٣- كربوكسى أميد N- methyl 4-pyridone 3-carboxyamide.

ويلاحظ النقص فى النياسين بداية بانخفاض تركيز كل من $NADP^+$, NAD^+ فـى الكـبد والعضـلات، ويؤدى النقص فى النياسين إلى الإصابة بمرض البلاجرا pellagra حيث يؤثر على الجلد والجهاز العصبى (التهاب جلد إسهال حساسية). ويحتاج الشخص البالغ ١٢ ٢٠ مليجراما كما أن هـذه الاحتياجات ترتبط باحتياجات الإنسان من التربتوفان بما يعطى ٦٠ ٧٠%. وتعتبـر الألبان والبيض أغذية وقائية من البلاجرا على الرغم من انخفـاض محتواها من النياسين حيث إنها تحتوى على تربتوفان والذى يحل محـل النياسين فى الجسم. حيث وجد أن ٦٠ مليجراما من التربتوفان يكافئ واحـد مليجـرام مـن النياسين. ويعتبر مستويات مشتقات النياسين (ميثيل نيكوبتنامين فى البول، وميثيل بيريدون كربوكسى أميد فى الدم) دلالة على نقـص النياسين فى الجسم. ويوجد النياسين فى الأغذية على صورة حمض النيكوتنـيك سواء على صورة الأمين أو على صورة مرافق الإنزيم ويوجد النياسين فى الكبد الكلاوى اللحوم الحمراء الحبوب الخميرة وعش الغراب الأسماك الخضراوات الورقية الفاصوليا الخضراء النقل الدجاج.

ويفقـد النياسين فى ماء سلق الخضراوات حيث تصل نسبة الفقد إلى ١٥% - كمـا يفقد فى المعاملات التكنولوجية التى تستخدم المحاليل الملحية وتصـل نسـبة الفقـد ٢٥ ٣٠%. ويمكـن تقديـر النياسـين بالطـرق الميكـروبيولوجية وهى طريقة حساسة ومتخصصة وتعتمد الطريقة على أن الميكروبات تعتمد فى نموها على النياسين.

تـؤخذ وزنـة من العينة تضاف إليها محلول حمض كبريتيك ١ ع فى أنـبوبة ثم يعقم بالاتوكلاف على درجة ١٢١م لمدة ساعة ثم يبرد ويضبط الـ pH إلى ٦,٨ يرشح بعد ذلك تحضر ٦ أنابيب ويوضع فيها الأحجام التالية علـى الترتيب من راشح العينة ٠,٥، ١، ٢، ٣، ٤، ٥ مل ثم يكمل الحجم إلى

٥ مل لكل الأنابيب ثم يضاف ٥ مل من بيئة ديفكو Difco basal medium لتقدير النياسين ثم يعقم على ١٢١م لمدة ١٠ دقائق، ثم يبرد.

تحضر أنابيب تحتوى على محلول نياسين قياسى (تركيزه ٠,١ ميكروليتر / مل) ويؤخذ الأحجام ٠,٥، ١، ١,٥، ٢، ٢,٥، ٣، ٤، ٥مل وتجرى عليها نفس الخطوات السابقة. يتم التلقيح بميكروب Lactobacillus plantarum ATCC 8014 فى بيئة الأنابيب السابقة ثم تحضن على درجة ٣٧م لمدة ١٦ ١٨ ساعة حتى تشاهد عكارة فى الأنابيب. قدر النسبة المئوية للعكارة أو الامتصاص .(O.D) على طول موجى بين ٥٤٠ ٦٦٠ نانوميترا.

٥- حمض البانتوثينك Pantothenic acid

يعتبر حمض البانتوثينك الوحدة النباتية لمرافق الإنزيم أ CoenzymeA الحامل الرئيسى لمجاميع الأستيل والاسيل فى ميتابلزم الجليد. ويوجد الفيتامين على الصورة الحرة فى بلازما الدم بينما يتواجد فى الأعضاء كمرافق إنزيمى CoA P).

ويحتاج الإنسان البالغ من ٦ ٨ ملجرامات ويصل تركيزه فى الدم نحو ١٠ ٤٠ ميكروجراما / ١٠٠ مل. وتجدر الإشارة إلى أن نحو ٢- ٧ ملجرامات / اليوم يفرز فى البول. ويوجد الفيتامين فى الألبان ومنتجاتها البيض الكبد الكلاوى اللحوم الفاكهة الخضراوات الخميرة الحبوب النقل. والفيتامين ثابت نسبيا يتأثر بالمعاملات التكنولوجية لمنتجات الألبان وتصل نسبة الفقد إلى ١٠% كما تصل نسبة الفقد فى معاملات الخضروات إلى نحو ١٠ ٣٠% ويرجع ذلك غالبا إلى الإذابة فى ماء السلق.

ويمكن تقدير حمض البانتوثينك بالطرق الميكروبيولوجية باستخدام بكتريا Lactobacillus arabinosus مع ضرورة تحرير الفيتامين من العينة الغذائية باستخدام خليط من إنزيم البيروفوسفاتيز وإنزيم الفوسفاتيز وذلك للحصول على نتائج دقيقة.

٦- البيوتين Biotin

يعمـــل البيوتـــين كمجمـــوعة تعويضـــية فـــى إنزيمات الكربوكسله carboxylating enzymes مـــثل actyl CoA carboxylase و propionyl CoA carboxylase , pyruvate carboxylase ولهذا تلعب دورا سهما فى التمثيل الحيوى للأحماض الدهنية.

ويمكن لمجموعة الكربوكسل فى البيوتين أن تتفاعل مع مجاميع الأمين وتكون أميد.

وجديـــر بالإشـــارة فإن تناول كميات كبيرة من بياض البيض الطازج الخـــام يفقد نشاط البيوتين الحيوى نتيجة الارتباط الخاص مع مركب أفيدين Avidin. وتـــبلغ الاحتـــياجات اليومـــية للشـــخص الـــبالغ ١٥٠ ٣٠٠ ميكروجـــرام. لا يـــوجد البيوتين فى الغذاء على صورة حرة بل يرتبط مع البـــروتينات. وتصـــل نســـبة الفقد فى البيوتين إلى نحو ١٠ ١٥% خلال المعـــاملات التكنولوجـــية وتخـــزين الأغذية. ومن المصادر الجيدة للبيوتين الألـــبان ومنتجاتها، البيض الكبد الأسماك الحبوب عش الغراب الخضـــراوات الفاكهـــة الخميـــرة. ويمكـــن تقديـــر البيوتين بالطرق الميكـــروبيولوجية باســـتخدام بكتـــريا حمـــض اللاكتيك Lactobacillus arabinonsus وقـــياس العكـــارة للـــنمو الميكروبـــى بعـــد ٢٤ ساعة من التحضين.

٦- حمض الفوليك Folic acid

تعتبـــر مشـــتقات تتـــرهيدروفولات tetrahydrofolate فى حمض الفوليك عامل مساعد للإنزيمات التى تقوم بنقل وحدات الكربون فى مراحل تفاعلات الأكسدة المختلفة. وبتقدير النقص فى حمض الفوليك فى خلايا الدم الحمـــراء والـــبلازما أو بتقدير التغير فى مستويات خلايا الدم يمكن التعرف على عدم كفاية حمض الفوليك ويعتبر مستوى حمض الفوليك فى سيرم الدم نحـــو ٥ نانوجـــرامات / مـــل يدل على وجود نقص فيه. وتبلغ الاحتياجات اليومـــية للشـــخص الـــبالغ ٠,٤ ٠,٨ ملجـــرام. ويـــوجد حمض الفوليك

علـــى الصورة الحرة فى الكبد بينما يوجد بصورة مرتبطة فى الخضراوات. يـــوجد حمض الفوليك فى اللبن ومنتجاته، صفار البيض اللحوم الكبد الحبوب القمح الخضراوات الفاكهة الخميرة.

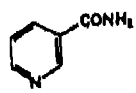
وتجـــدر الإشـــارة إلـــى أن حمـــض الفوليك لا يتأثر بعمليات السلق للخضراوات ولكنه يفقد بنسبة قليلة عند طهى اللحوم، ويرجع الفقد فى اللبن إلـــى حدوث أكسدة كما أن إضافة الأسكوربات يحافظ على حمض الفوليك. ويفقد حوالى ٨٠ ٩٠% من حمض الفوليك من البطاطس بالغليان.

ويـــتم تقدير حمض الفوليك بالطرق الميكروبيولوجية باستخدام بكتريا Lactobacillus casei باســـتخدام إنـــزيمات متخصصـــة لتحرير الفولات المرتبطة.

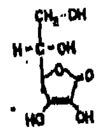
٧- فيتامين ب١٢ (السيانوكوبلامين)

Vitamin B_{12} (cyanocobalamin)

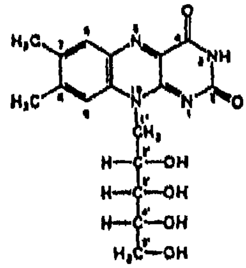
تـــم عزل فيتامين ب١٢ عام ١٩٤٨ من بكتريا L.Lactis ونظرا لثباته فإنه يستخدم على صورته غالبا، والفيتاميـــن لا يهدم بالطبخ إلا إذا كان الوسط قلويا كما أن الغليان يفقد فقط ٨% من الفيتامين وبسترة اللبن يفقد ٧ ١٠% مـــن الفيتامين ويتوقف ذلك على طريقة البسترة المتبعة. ويعتبر الفيتامين ثابت فـــى مدى من رقم الـــ pH ٤ ٦ ويتحطم الفيتامين فى الوسط القلوى أو فى وجـــود العـــوامل المختزلة مثل حمض الأسكوربيك أو ثانى أكسيد الكبريت. ويحـــتاج الشخص البالغ يوميا ٣ ٤ ميكروجرامات، وتعتبر الكبد والكلاوى والغـــدد والأنســـجة العضـــلية مصادر جيدة للفيتامين وبالتالى فإن المنتجات الحيوانـــية هـــى أهم المصادر للفيتامين ولذا فإن أعراض نقص فيتامين ب١٢ تظهـــر علـــى الأشـــخاص النباتيـــين. ويمكـــن تقدير فيتامين ب١٢ بالطرق الميكـــروبيولوجية على نفس النحو المذكور سابقا بمقارنة النمو الميكروبى فى وجود مستخلص العينة مع النمو الميكروبى المناظر باستخدام تركيزات معلومة مـــن فيتامـــين ب١٢، وقـــياس هذا النمو الميكروبى عن طريق قياس العكارة والميكروب المستخدم هو Lactobacillus Leichmannil 9797.



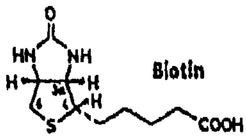
Nicotinamide (Niacin)



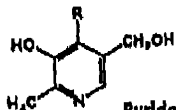
L-Ascorbic Acid (Vitamin C)



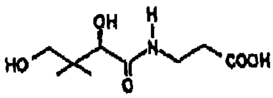
Riboflavin (Vitamin B_2)



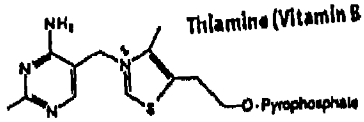
Biotin



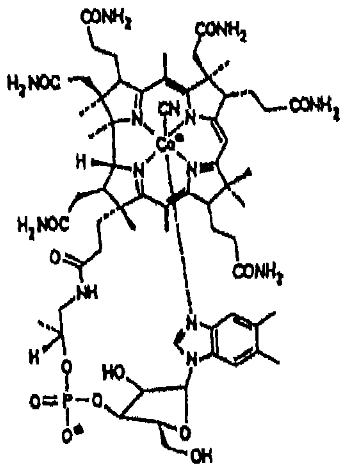
Pyridoxine (Pyridoxal, Vitamin B_6)



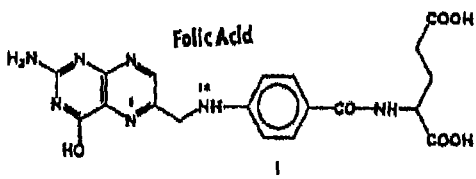
Pantothenic Acid



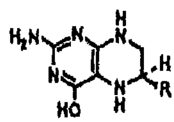
Thiamine (Vitamin B_1)



Cyanocobalamin (Vitamin B_{12})



Folic Acid



Tetrahydro Folate

Water-Soluble Vitamins

شكل (٤٤): الفيتامينات القابلة للذوبان في الماء

ثانيا: الفيتامينات القابلة للذوبان فى الدهون Fat Soluble Vitamins

١- فيتامين أ (الرتينول) Vitamin A (Retinol)

يوجد فيتامين أ فى الأنسجة الحيوانية زيت كبد الأسماك دهن اللبن صفار البيض، وتحتوى الأغذية النباتية على الكاروتينات التى تعمل كمولدات للفيتامين Provitamin A. وتوجد الكاروتينات فى الخضراوات الخضراء والصفراء والخضر الورقية، فهى توجد فى الجزر السبانخ اللفت الفلفل الطماطم كما توجد فى الفاكهة مثل البرتقال المشمس كما توجد الكاروتينات فى زيت النخيل وتستخدم الكاروتينات كمواد ملونة.

وتجدر الإشارة إلى أن الكاروتينات فى الحيوانات ذات أصل نباتى حيث إنها تصل إلى الحيوان نتيجة التغذية على علائق أو أغذية تحتوى على كاروتينات. وتوجد عدة مولدت لفيتامين أ وكلها تقع تحت صبغات الكاروتينات ويعتبر البيتا كاروتين B carotene ومشتقاته أهم مولدات الفيتامين. وتبلغ الاحتياجات اليومية لفيتامين أ ١,٥ ١,٨ ملجرام وتبلغ محتوى فيتامين أ فى الكبد ٢٥٠ ميكروجراما لكل جرام واحد من الأنسجة الطازجة.

وتعتبر تركيز الفيتامين أقل ١٥ ٢٤ ميكروجراما لكل ١٠٠ مل بلازما دلالة على نقص الفيتامين. وتؤثر معاملات التصنيع والتخزين وتؤدى إلى هدم الفيتامين بنسبة ٥ ٤٠% ويعتبر فيتامين أ ثابتا نسبيا ضد المعاملات الحرارية فى غياب الأكسوجين، كما أن الفيتامين سهل الأكسدة تحت تأثير الضوء بواسطة البيروكسيدات المتولدة عن التزنخ التأكسدى لليبيدات. وجدير بالذكر فإن فيتامين أ حساس للأشعة فوق البنفسجية والهواء والحرارة العالية والرطوبة ولذا فإنه يجب مراعاة ذلك عند تقدير فيتامين أ.

وتعتبر طريقة High Performance Chromatography liquid (HPLC) من أفضل الطرق والتى تعطى نتائج على درجة عالية من الدقة لتقدير الفيتامين. وتعتمد الطريقة على إجراء تصبن saponi

fication للعيـــنة ثـــم يستخلص فيتامين أ بواسطة مذيب عضوى ويركز ثم يقدر فى جهاز HPLC باستخدام عمود سليكا Silica column.

وتتلخص الطريقة فيما يلى:

يـــوزن العيـــنة الغذائـــية ثم يضاف ١٠ مل من محلول البيروجالول الكحولـــى ethanolic pyrogal ثـــم أضـــف محلول أيدروكسيد بوتاسيوم كحولـــية بتركيـــز ١٠% علـــى درجة حرارة الغرفة لمدة ١٨ ساعة وذلك باستخدام مكثف عاكس.

يســـتخلص الفيتامين بعد ذلك بواسطة مخلوط مذيبات (هكسان، داى ايثـــيل اثييـــر) ثم يركز ويبخر باستخدام غاز نيتروجين ثم تحقن فى جهاز HPLC تحت الظروف التالية:

العمود Column ١٥سم × ٤,٥ مم معبأ السليكا.
الوسط المتحرك mobile phase هبتان وايسوبروبانول.
الكاشف أشعة فوق بنفسجية طول موجى ٣٤٠ نانوميترا.
معدل السريان ١ ٢ مل / دقيقة.
الـــ Retention time للصورة cis للرتينول ٤,٥ والصورة ترانس trans ٥,٢ دقيقة.

ويمكن حساب تركيز كل من الصورتين السابقتين كما يلى:

$$\text{ترانس تريبتنول (ملجرام / مل)} = \frac{\text{مساحة المنحنى فى العينة} \times \text{تركيز العينة القياسية} \times \text{معامل التخفيف}}{\text{مساحة المنحنى فى المحلول القياسى} \times \text{حجم العينة}}$$

ويمكـــن عـــن طـــريق الكروماتوجـــرام الخاص بتحليل فيتامين أ فى الصورة cis حيث Rt = ٤,٥ دقيقة باستخدام المعادلة السابقة. حساب تركيز سيس ريتنبول (ملجرام / مل).

٢- فيتامين د Vitamin D

ويسمى أيضا بالكاليسفرول Calciferol ويوجد فى عدة صورة أهمها فيتامـــين د٣ Vitamin D_3 ويســـمى كولى كاليسفرول Cholecalciferol

وهو يتكون من الكوليسترول فى الجلد خلال التعرض للضوء وتأثير الأشعة فــوق البنفســجية علـــى مركب 7- dehydro cholesterol والذى يعتبر Provitamin D_3. كما توجد صورة أخرى وهى فيتامين د٢ $VitaminD_2$ أو ا لأرجوكاليسيفرول ergocalciferol وهو يتكون من الارجوسيترول.

ويعتبــر مــركب الارجوســيترول، ٧-دهيدروكلوسيترول المركبات الأساســية التــى يــتكون منها الفيتامين أى أنها Provitamins تتحول إلى فيتاميــنات بالتعــرض للأشـــعة فوق البنفسجية. وينشأ عن نقص فيتامين د الإصابة بلين العظام والكساح.

وتــبلغ الاحتياجات اليومية ١٠ ميكروجرامات ويمكــن التعرف على مــدى الــنقص فـــى الفيتامين بتقدير تركيز المشتق ٢٥- هيدروكسى كولى كاليســيفرول 25-cholecalci ferol فى البلازما وكذلك بتقدير نشاط إنزيم الفوســفاتيز القلــوى فى السيرم حيث يزداد نشاط الإنزيــم فى حالة نقص الفيتامــين. وتحــتوى الأغذية على محتوى منخفض من فيتامين د٣ ويعتبر زيــت كــبد الأسماك مصدرا جيدا للفيتامين د. وجدير بالإشارة أن مولدات فيتامــين د (الارجوســيترال و ٧-دهيدروكولى ستيرويل) توجد بوفرة فى الأغذيـــة النباتـــية والحيوانية الخمائر عش الغراب الكرنب زيت جنـــين القمح السبانخ منتجات الألبان صفار البيض. ويعتبر الفيتامين حســاس الأكسوجين والضوء. ويمكن تقدير فيتامين د بالطرق الحيوية التى تعــتمد على تغذية مجموعة منفصلة من فئران التجارب على كل من العينة ومستحضـــرات قياسية من الفيتامين، ويؤخذ فى الاعتبار تغذية الفئران على وجبات خالية من فيتامين د لفترة كافية. وتأخذ التجربة ١٠ ١٤ يوم يحدد التركيز من الفيتامين الذى يمنع ظهور أعراض الكساح للفئران.

٣- فيتامين هـــ Vitamin E

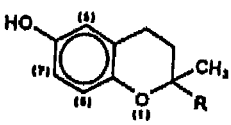
ويســمى بالتوكوفيــرول ألفـــا tocopherols α والتوكوفيرولات تخـــتلف فى وضع مجاميع الميثيل على الحلقة كما أن التوكوفيرولات مشتقة مـــن مـــركب التوكول Tocol ويوجد منها أربع صور ألفا، بيتا، جاما، دلتا توكوفيرول، وتعتبر الصورة الفاتوكوفيرول tocopherols α هى الأكثر

نشاطا وتعتبر التوكوفيرولات ذات نشاط حيوى كمضادات للأكسدة للبيبيدات، ولقــد وجـــد أن وجـــود حمـــض الستريك والأسكوربيك بالمتيات مع الألفا توكوفيرول يزيد من التأثير المضاد للأكسدة.

وتبلغ الاحتياجات اليومية ١٥ ملجراما من الفاتوكوفيرول وتزيد عندما تحتوى الوجبة على أحماض دهنية غير مشبعة بتركيز عال.

ويوضـــح الجـــدول رقـــم (٥٩) محتوى الزيوت النباتية من مركبات التوكوفيرولات مقدرة مليجرام لكل ١٠٠ جرام عينة. كما توجد أربعة أنواع أخرى من التوكوترينيول تختلف عن التوكوفيرول فى السلسلة الجانبية.

وتعتبـــر الزيوت النباتية وخاصة زيت الجنين مصدرا جيدا للفيتامين. وتـــؤدى عملـــيات التصـــنيع الغذائى وتخزين الأغذية إلى فقد محسوس فى محـــتوى الفيتامين حيث وجد أن حوالى ٧٥% من الفيتامين يفقد عند تخزين الشـــرائح المجمدة لمدة شهرين، كما أن عمليات القلى فى الزيوت تؤدى إلى فقـــد الفيتامـــين بنســـبة ١١% وتصـــل نسبة الفقد من الفيتامين فى الزيت المســـتخلص من البطاطس المقلية والمخزنة لمدة شهرين على درجة الغرفة الـــى ٧٧%. جـــدول (٦٠). ويمكـــن تقديـــر التوكوفيـــرولات بالطـــرق الكروماتوجرافية



CH_3 CH_3 CH_3

Tocol $R=H_2C-CH_2-CH_2-CH-CH_2-CH_2-CH_2-CH-CH_2-CH_2-CH_2-CH-CH_3$

Tocotrienol CH_3 CH_3 CH_3

$R=H_2C-CH_2-CH=C-CH_2-CH_2-CH=C-CH_2-CH_2-CH=C-CH_3$

Substitution	*Tocopherols (T)*	*Tocotrienols (T-3)*
5,7,8-Trimethyl	α-T	α-T-3
5,8-Dimethyl	β-T	β-T-3
7,8-Dimethyl	γ-T	γ-T-3
8-Methyl	δ-T	δ-T-3

جدول رقم (٥٩): التوكوفيرولات والتوكوتيرتينول في الاغذية (مللجرام / ١٠٠ جرام عينة)

Oil	α-T	α-T-3	β-T	β-T-3	γ-T	γ-T-3	δ-T	δ-T-R
Sunflower	56.4	<0.02	2.45	0.3	0.4	0.02	0.09	
Peanut	14.1	<0.01	0.4	0.4	13.1	0.03	0.92	
Soya	17.9	<0.02	2.8	0.4	60.4	0.08	37.1	
Cottonseed	40.3	<0.03	0.2	0.9	38.3	0.09	0.5	
Corn	27.2	5.4	0.2	1.1	56.6	6.2	2.5	
Olive	9.0	<0.01	0.2	0.4	0.5	0.03	0.01	
Palm(raw)	20.6	19.2	<0.1	2.5	<0.1	42.6	3.6	10.1
Wheat germ	133.0	<2.6	71.0	18.1	26.0		27.1	
Almond	20.7		0.3		0.9			
Apricot kernel	0.5				22.4		0.3	
Peach kernel	6.4		1.5		1.0			
Cocoa butter	0.3		<0.1		5.3		<0.1	
Palm oil, middle fraction	<0.1		<0.1		0.43		<0.1	
Shea fat stearin	<0.1		<0.1		0.43		<0.1	

المصدر : Belitz and Grosch

٤- فيتامين ك Vitamin K

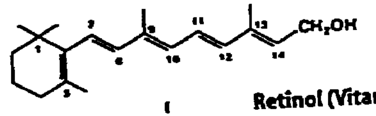
مجموعة فيتامين K عبارة عن مشتقات نافثاكينون naphthoquinone derivatives والتى تختلف فى السلسلة الجانبية. ويدخل الفيتامين فى التخليق الحيوى لبعض عوامل التجلط فى الدم (البروثرمبين البروكونفيرتين) ويسمى الفيتامين بمانع التجلط.

وتبلغ الاحتياجات اليومية ١ ٤ ملجرامات وينتشر وجود الفيتامين فى الخضراوات الورقية السبانخ الكرنب والقرنبيط كذلك يوجد فى الكبد كمصدر جيد يتأثر فيتامين ك ويهدم بالضوء والوسط القلوى بينما الفيتامين ثابت نسبيا فى الأكسوجين الجوى والحرارة.

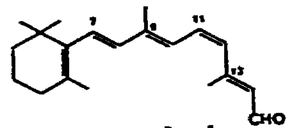
جدول رقم (٦٠): ثبات التوكوفيرول خلال عملية القلي

	Tocopherol total (mg/100 g)	Loss (%)
Oil before deep frying	82	
After deep frying	73	11
Oil extracted from potato chips immed-iately after production	75	
After 2 weeks storage at room temperature	39	48
After 1 month storage at room temperature	22	71
After 2 month storage at room temperature	17	77
After 1 month kept at -12°C	28	63
After 2 months kept at -12°C	24	68
Oil extracted from French fries immed-iately after production	78	
After 1 month kept at -12°C	25	68
After 2 months kept at -12°C	20	74

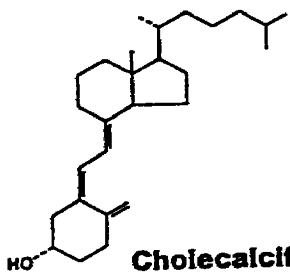
المصدر : Belitz and Grosch (1999)



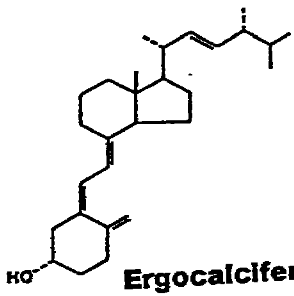
Retinol (Vitamin A)



11-cis-retinal

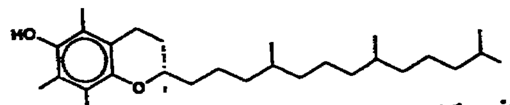


Cholecalciferol
Vitamin D3

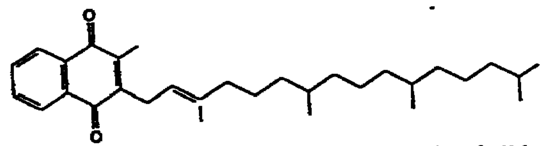


Ergocalciferol
Vitamin D2

Calciferol (Vitamin D)



α-Tocopherol (Vitamin E)



Phytomenadione (Vitamin K_1)

شكل (٢٥): الفيتامينات القابلة للذوبان في الدهون Fat-Soluble Vitamins

الاعتبارات الواجب مراعاتها عند تقدير الفيتامينات

١- يجب تلافى تأثير العوامل المؤثرة على نشاط الفيتامينات قبل تقديرها والتى من شأنها التأثير على دقة التقدير، هذه العوامل مثل الحرارة الأكسوجين الحموضة الضوء.

٢- يجب اختيار الطريقة المناسبة لتقدير الفيتامين بما يتلاءم مع الدقة والحساسية المطلوبة والتكاليف ومدى تطبيق الطريقة على العينة.

٣- يجب اتباع طريقة الاستخلاص الخاصة بكل فيتامين للمحافظة عليه:

أ يستخلص فيتامين ج أو حمض الأسكوربيك باستخدام حمض الميتافوسفوريك والأستيك أو الأكساليك على البارد.

ب- يستخلص فيتامينات ب٢، ب١ بالغليان أو الاوتكلاف فى وسط حمضى مع معاملة إنزيمية.

ج- يستخلص النياسين بالاتوكلاف فى وسط حمضى فى حالة الأغذية التى لا تحتوى على حبوب أو فى وسط قلوى فى حالة المنتجات الحبوب.

د فيتامينات D , E , A تستخدم المذيبات العضوية فى استخلاصها والتصبن ثم إعادة الاستخلاص بالمذيبات العضوية.

٤- إضافة مضادات الأكسدة Antioxidants أثناء استخلاص فيتامينات D , E , A نظرا لحساسية وعدم ثبات هذه الفيتامينات.

٥- يفضل حمض الميتافوسفوريك فى استخلاص فيتامين ج فى الأغذية مرتفعة البروتينات نظرا لكفاءة الحمض فى ترسيب البروتينات.

٦- يجب حفظ حمض الميتافوسفوريك (سائل الاستخلاص) فى الثلاجة حيث إنه يتحول ببطء فى حرارة الجو العادى إلى حمض فوسفوريك.

٧- يجب تقدير قوة الصبغات المستخدمة فى تقدير الفيتامينات فور تحضيرها (مثل صبغة ٢، ٦ داى كلوروفينول اندوفينول).

٨- حفظ الصبغات المستخدمة فى تقدير الفيتامينات فى زجاجات داكنة اللون ومبرد حتى لا تفقد قوتها.

٩- فـى حالـة الأغذية المجففة (معاملة بغاز ثانى أكسيد الكبريت) يجـب نقـع العيـنة مع ٢٠٠ مل من حمض ميثافوسفوريك ٦% أو حمض أكساليك ٢% لمدة ١٥ ٣٠ دقيقة.

١٠- فى حالة الأغذية المحتوية على صبغات حمراء يفضل استعمال الطرق الفوتومترية Photometric methods.

١١- الأغذيـة المحفوظة فى علب صفيح يحتمل تلوث المادة الغذائية بآثار من الحديد ولذا يفضل إضافة حمض خليك ٨% إلى سائل الاستخلاص لمنع الحديد من التداخل.

١٢- يجب أن تكون عمليات الوزن والمعايرة أو التقدير سريعة بقدر الإمكان لتلافى حدوث أكسدة فى حالة الفيتامينات الحساسة لذلك.

١٣- فـى حالة وجود عكارة عند استخلاص الفيتامين يفضل استخدام الطرد المركزى بدلا من الترشيح لتلافى حدوث أكسدة.

١٤- إضـافة اسـيتون فى حالة الأغذية المعاملة بالكبرتة حتى يقوم بحجـز غـاز ثانى أكسيد الكبريت حتى لا يتداخل فى التفاعل كما فى حالة تقدير فيتامين ج.

١٥- يجـب تلافـى تـداخل المـركبات المختلفة فى عمليات تقدير الفيتاميـنات بالطرق المختلفة حتى نحصل على دقة عالية من التقدير. مثال ذلك إضافة حمض بوريك عند تقرير فيتامين ج بطريقة الوميض لمنع تداخل حمض البروفيك.

الرماد والعناصر المعدنية فى الأغذية

Ash and Minerals in Foods

يعرف الرماد Ash بأنه الجزء غير العضوى المتبقى بعد الحرق الكلى أو أكسدة المادة العضوية فى العينة الغذائية بحيث تصبح خالية تماما من الكربون.

وتعبر الرماد عن محتوى المادة الغذائية من العناصر المعدنية Minerals حيث تقسم هذه العناصر المعدنية إلى:

١- عناصر رئيسية تشمل الكالسيوم Calcium الفوسفور Phosphorus البوتاسيوم Potassium الكلور Chloride الصوديوم Sodium ماغنسيوم Magnesium.

٢- عناصر صغرى تشمل الحديد Iron الزنك Zink النحاس cuppor منجنيز Manganese يود Iodine موليبديوم.

كما تقسم العناصر المعدنية طبقا لأهميتها الحيوية إلى عناصر معدنية أساسية Essential elements تقوم بدور مهم فى الوظائف الحيوية وتشمل الحديد النحاس الزنك المنجنيز الكلوبلت والكلوريد الفانديوم الكروميوم السيليليوم المولبيديوم النيكل البورون، كما توجد عناصر معدنية غير أساسية non-essenfial elemeits ليس لها أى دور حيوى مثل القصدير والألمونيوم.

وتتضح أهمية المحتوى من العناصر المعدنية فى الماء وفى الأغذية ومنتجاتها من إدراك الخصائص التالية:

١- القيمة التغذوية لهذه العناصر وأهميتها لجسم الإنسان.

٢- الخصائص الحيوية والفسيولوجية لبعض العناصر المعدنية.

٣- التأثير السام الناشئ عن بعض العناصر المعدنية أو كنتيجة لزيادة تركيزها عن الحد المسموح بها مثل الزئبق الكادميوم الرصاص الألمونيوم.
٤- الأضرار الصحية الناشئة عن نقص أو زيادة بعض العناصر المعدنية فى الجسم مثل نقص الكالسيوم الذى يؤدى إلى هشاشة ولين العظام، زيادة الصوديوم الذى يؤدى إلى ارتفاع ضغط الدم.
٥- بعض العناصر المعدنية لها خصائص وظيفية فى قوام الأغذية.

وجدير بالذكر أن محتوى الأغذية الطازجة من الرماد نادرا ما يكون أكثر من ٠,٥%، كما أن الزيوت والدهون النقية بصفة خاصة تحتوى على تركيز منخفض وقد لا تحتوى على عناصر معدنية، بينما تحتوى اللحوم المجففة على تركيز مرتفع يصل إلى ١١,٦% على أساس الوزن الرطب.

وتتراوح نسبة الرماد فى الزيوت والدهون والشورتتنج بين صفر ٤٩% بينما منتجات الألبان فيتراوح الرماد فيها بين ٠,٥ ٢,١%، الفاكهة والخضراوات وعصائرها ما بين ٠,٢ ١,٦% – الفاكهة المجففة تصل إلى ٢,٤ ٣,٥% – الدقيق والحبوب بين ٠,٣ ٢,٤% وترتفع نسبة الرماد فى الحبوب ومنتجاتها المخلوطة بالردة لأن الأخيرة غنية بالعناصر المعدنية.

وتحتوى المكسرات ومنتجاتها على ٠,٨ ٣,٤% رماد، واللحوم والدواجن والأغذية البحرية على ٠,٧ ٢,٣%.

ويوضح جدول (٦١) مستوى وتركيز العناصر المعدنية الكبرى فى الأغذية ومنتجاتها، كما يوضح جدول (٦٢) تركيز العناصر المعدنية فى جسم الإنسان وكذلك الاحتياجات اليومية من هذه العناصر.

وتؤثر المعاملات التكنولوجية على محتوى الأغذية من العناصر المعدنية، فالأغذية المعلبة تتراوح نسب الفقد من عناصر المنجنيز والزنك والكوبلت ما بين ٤٠ ٨٩% بينما نسب الفقد عند طحن القمح ما بين ٧٦ % فى الحديد، ١٦% لعنصر السينيليوم وما بين ٦٨ ٨٩% فى عناصر الزنك والنحاس والكوبلت والمنجنيز، وفى صناعة ضرب الأرز تتراوح نسب الفقد فى هذه العناصر ما بين ٢٦ ٧٥%.

جدول (٦١): محتوي بعض الأغذية من العناصر المعدنية الرئيسية

Food product	Na	K	Ca	Fe	P
Milk and dairy products					
Bovine milk, raw, high quality	48	157	120	0.046	92
Human	16	53	31	0.08	15
Butter	5	16	13	-	21
Cheese					
Emmental (45% fat)	450	107	1.020	0.31	0.36
Camembert (60% fat)	944	105	400	0.58	310
Camembert (30% fat)	900	120	600	0.17	540
Eggs					
Cheiken egg yolk	51	138	140	7.2	590
Chicken egg white	170	154	11	0.2	21
Meat and fish					
Beef,whole carcass, lean	58	342	11	2.6	170
Herring	117	360	34	1.1	250
Eel	65	217	17	0.6	223
Cereals and cereal products					
Wheat, whole kernel	7.8	502	43.7	3.3	4.6
Wheat flour, type 405	2.0	108	15	1.95	-
Wheat flour, type 550	3.0	126	16	1.1	95
Wheat germ	5	837	69	8.1	1.100
Wheat gluten	2	1.390	43	3.6	1.240
Rye, whole kernel	40	530	64	-	373
Rye flour, type 997	1	240	31	2.2	-
Corn, whole kernel	6	330	25	-	256
Corn flakes	915	139	13	2.0	59
Oat flakes	5	335	54	4.6	391
Rice, unpolished	10	150	23	2.6	325
Rice, polished	6	103	6	0.6	120

تابع جدول (٦١): محتوي بعض الأغذية من العناصر المعدنية الرئيسية

Food product	Na	K	Ca	Fe	P
Vegetables and fruits					
Watercress	12	276	180	3.1	64
Mushrooms (cultivated)	8	422	8	1.26	123
Chicory	4.4	192	26	0.74	26
Peas, green	2	304	24	1.84	108
	4	421	35	2.0	49
Kale	42	490	212	1.9	87
Potatoes	3.2	443	9.5	0.8	50
Head lettuce	10	224	37	1.1	33
Lentils, dried	4	810	74	6.9	412
Carrots	60	290	41	0.66	35
Brussels sprout	7	411	31	1.1	84
Spinach	65	633	126	4.1	55
Tomato	6	297	14	0.5	26
White cabbage	13	227	46	0.5	28
Apple	3	144	7	0.48	12
Orange	1.4	177	42	0.4	23
Apricots	2	278	16	0.65	21
Strawberry	2.5	147	26	0.96	29
Grapefruit	1.6	180	18	0.34	17
Rose hips	146	291	257	-	258
Currants-red	1.4	238	29	0.91	27
Currants-black	1.5	310	46	1.29	40
Cherries-sour	2	114	-	0.6	7
Plums	1.7	221	14	0.44	18
Sea buckthorn	3.5	133	42	0.44	9

المصدر : Beltiz and Grosch (1999)

جدول (٦٢): الاحتياجات اليومية لجسم الإنسان من العناصر المعدنية

Element	Content (mg/kg body weight)	Intake (mg/day)
Essential		
Fe	60	15
F	37	2.5
An	33	6-22
Si	14	33
Cu	1.5	3.2
B	0.7	1.34.3
V	0.3	0.02
As	0.3	0.02-0.03
Se	0.2	0.07
Mn	0.2	2-48
I	0.2	0.2
Ni	0.1	0.4
Mo	0.1	0.3
Cr	0.1	0.005 0.2
Co	0.02	0.002-0.1
Nonessential		
Rb	4.6	1-2
Br	2.9	7-5
Al	0.9	5-35
Ba	0.3	1.3
Sn	0.2	4.0
Ti	0.1	0.9
Au	0.1	
Sb	0.1	
Te	0.1	0.2
Li	0.03	2.0
Cs	0.02	
U	0.001	
Bi	0.0004	

المصدر : Beltiz and Grosch (1999)

جدول (٦٣): تقسيم الاغذية تبعا لمحتواها من العناصر المعدنية الرئيسية

	Rich		Average		Poor	
Sodium	Salted cooked meats	1000-3000	Fresh meat	60-70	Pasta (raw)	5
(Na=23)	Sauerkraut	600	Milk	50	Flour,rice	3
	Fish preserves	400-750	Saltwater fish	75-100	Fruits	3
	Matured cheeses	400-850	Eggs	130	Cabbage,radish	10-15
	Bread	500	Spinach,celery	100	Other vegetables	1-6
			Carrot, artichoke	50		
Potassium	Ham	600	Fresh meat	300	Honey	5
(K=39)	Lentils	1200	Pork, milk	150	Butter	15
	Stone fruits	600	Common vegetables	200-300		
	Potato	500	Fish	300		
			Bread	100		
			Fruits	150-300		
Calcium	Comte cheese	1000	Milk	125	Apple, peach	7
(Ca=40)	Roquefort cheese	700	Soft cheese	170	Fruit (others)	25-50
	Fish	300	Onion, cress	100-200	Meat	15
			Leek	60	Bread, pasta	20
					Ham	10
Magnesium	Cocoa, soya	300-400	Maize,barley	125	Meat	35
(Mg=24)	Almonds	250	Wholemeal bread	90	Fish	20-30
			While bread	60	Milk	12
			Vegetables	40-80		
Phosphorus	Comte cheese,soya	600	Milk, bread	100	Pulpy fruits	20-30
(P=31)	Stone fruits	450	Pasta(raw)	165	Butter	15
	Roquefort, lentils	400	Vegetables	80-12		
			Meat, fish	200		

المصدر Alais and Linden (1991)

جدول (٦٤): محتوي بعض الأغذية من الرماد

Food Item	*Percent Ash (wet weight basis)*
Cereals, bread, and pasta	
Rice, brown, long-grain, raw	1.5
Corn meal, whole-grain, yellow	1.1
Hominy, canned, white	0.9
White rice, long-grain, regular, raw, enriched	0.6
Wheat flour, whole-grain	1.6
Macaroni, dry, enriched	0.7
Rye bread	2.5
Dairy products	
Milk, whole, fluid	0.7
Evaporated milk, whole	1.6
Butter, with salt	2.1
Cream, fluid, half and half	0.7
Margarine, hard, regular, soybean	2.0
Yogurt, plain, low fat	0.7
Fruits and vegetables	
Apples, raw, with skin	0.3
Banans, raw	0.8
Cherries, sweet, raw	0.5
Raisins	1.8
Potatoes, raw, skin	1.6
Tomatoes, red, ripe, raw	0.4
Meat, poultry, and fish	
Eggs, whole, raw, fresh	0.9
Fish fillet, battered or breaded, and fried	2.5
Prok, fresh, leg (ham) whole, raw	0.9
Hamburger, regular, single patty, plain	1.7
Chicken, broilers or fryers, breast meat only, raw	1.0
Beef, chuck, arm pot roast, raw	0.9

المصدر: USDA (1997)

ويمكن تقسيم الأغذية المختلفة تبعا لمحتواها من العناصر المعدنية الرئيسية إلى أغذية غنية وأخرى متوسطة المحتوى وأخرى فقيرة فى العناصر المعدنية كما هو موضح فى الجدول رقم (٦٣).

ويمكن التعبير عن محتوى الأغذية من الرماد على أساس الوزن الجاف أو على أساس الوزن الرطب للعينة الغذائية جدول رقم (٦٤)

وطبقا للمواصفات القياسية المصرية لا يزيد الحد الأقصى المقبول للمتناول المسموح به بالمليجرام / كجم من وزن الجسم كما هو موضح:

م	الملوث	المتناول المأخوذ اليومى مجم / كجم من وزن الجسم		المتناول المأخوذ الأسبوعى مجم / كجم من وزن الجسم
١	الزرنيخ	٠,٠٠٢		
٢	الكادميوم	—		٠,٠٠٦٧-٠,٠٨٣
٣	النحاس	٠,٠٥	٠,٥	..
٤	الحديد	٠,٨		..
٥	الرصاص	—		٠,٥ للكبار - ٠,٢٥ للأطفال
٦	الزئبق	—		٠,٠٠٥
٧	ميثيل الزئبق	—		٠,٠٠٣٣ كزئبق
٨	القصدير	٢٠		
٩	الزنك	٠,٣	١	

كذلك فإن الحدود القصوى للمعادن الثقيلة فى الأغذية بالمليجرام لكل كيلوجرام من وزن السلعة يمكن إيضاحها كما يلى طبقا للمواصفات القياسية المصرية.

العصائر والمشروبات:

اسم المنتج	زرنيخ	رصاص	نحاس	زنك	حديد	مجموع النحاس والزنك والحديد	قصدير
- لب وعصائر الخضر والفاكهة وخليط العصائر للاستهلاك المباشر ومركزات العصائر عند اعدادها للاستهلاك المباشر	٠,٢	٠,٣	٥	٥	١٥	٢٠	١٥٠
- المشروبات السكرية الغازية وغير الغازية والشراب عند إعداده للاستهلاك المباشر	٠,١	٠,٢	–	–	١٥	–	١٥٠

الخضر ومنتجاتها:

	زرنيخ	رصاص	نحاس	قصدير	كالسيوم
- زيتون المائدة	٠,٢	٠,٣	٥	١٥٠	–
- معلبات الخضر	٠,٢	٠,٥	–	١٥٠	٠,١
-معلبات الخضر والبقول المطبوخة أو المطبوخة باللحم	٠,٢	٠,٥	–	١٥٠	٠,١
- الخضراوات المجمدة	٠,١	٠,٢	–	–	٠,١
- المخللات المعبأة	٠,٢	٠,٣	٥	١٥٠	٠,١
- منتجات الطماطم المحفوظة	٠,٢	٠,٣	٥	١٥٠	٠,١

الفاكهة ومنتجاتها:

	زرنيخ	رصاص	نحاس	قصدير
- الكمثرى والتفاح والبلح والمانجو والخوخ المعلب	٠,٢	٠,٣	٥	١٥٠
- لفائف المشمش المجفف (قمر الدين)	٠,١	٠,٢	١٠	–

	زرنيخ	رصاص	زئبق	كادميوم
الحبوب و البقول و البذور	٠,٥	٠,٥	٠,٠٥	٠,١

الكاكاو ومنتجاته:

	زرنيخ	رصاص	نحاس	حديد
- زبدة كاكاو	٠,٥	٠,٥	٠,٤	٢
- الشيكولاته	٠,٣	١	١٥	--
- الشيكولاته غير المحلاة	٠,٣	١	٣٠	--
- الكاكاو البودرة	٠,٣	١	٥٠	--
- الكاكاو المخلوط بالسكر	٠,٣	١	٥٠	--
- لوز كاكاو	٠,٣	١	--	--
- كاكاو متكتل	٠,٣	١	--	--
- عجينة كاكاو	٠,٣	١	--	--
- مسحوق كاكاو	٠,٣	١	--	--

السكاكر:

	زرنيخ	رصاص	نحاس
- السكر الأبيض	٠,٣	٠,٥	١
- السكر المبلور	٠,٣	٠,٥	٢
- السكر الناعم	٠,٣	٠,٥	١٠
- الديكستروز الجاف واللامائى وأحادى الماء	٠,٣	٠,٥	٢
- شراب الجلوكوز وشراب الجلوكوز الجاف	٠,٣	٠,٥	٥
- اللاكتوز	٠,٣	٠,٥	٢
الفركتوز	٠,٣	٠,٥	٢

الزيوت والدهون:

	زرنيخ	رصاص	نحاس	حديد
- جميع الزيوت المكررة المعدة للاستهلاك الادمى والدهون والمرجرين	٠,١	٠,١	٠,١	١,٥
- الزيوت البكر للفول السودانى وعباد الشمس والشلجم والذرة والسمسم والخردل وجوز الهند والنخيل والزيتون	٠,١	٠,١	٠,٤	٥

الألبان ومنتجاتها:

	زرنيخ	رصاص	نحاس	زنك	حديد	زئبق	كادميوم	القصدير
-معجون الجبن منخفض الدهن اللبن	-	٠,١	٠,١	-	١,٥	-	-	٥٠
-مسحوق شرش اللبن الغذائى الحلو	-	٠,٥	٥	-	٢٠	-	-	٥٠
- مسحوق شرش اللبن الغذائى الحامض	-	٠,٥	٥	-	٥٠	-	-	٥٠
-كازينات الألبان الغذائية	-	٢٠	٢	-	٥	-	-	٥٠
- الجبن المطبوخ المحتوى على زيوت نباتية	٠,٢٥	٠,٣	٠,٣	٢٠	-	٠,٢	٠,٥	٥٠
- الزبد والمسلى الطبيعى بقرى وجاموسى والقشدة	٠,١	٠,١	٠,١	-	١,٥	-	-	٥٠

الأسماك ومنتجاتها:

	رصاص	ميثيل	زئبق	كادميوم
– الأسماك الطازجة والمجمدة والمعلبة والمملحة والمدخنة والجمبرى المجمد والمجفف والمعلب والكابوريا المعلبة	١٢٠	٠,٥	–	٠,١

اللحوم ومنتجاتها:

	زنيخ	رصاص	نحاس	زنك	كادميوم	قصدير
– اللانشون عبوات صفيح	–	٠,٥	–	–	–	١٠٠
– لانشون عبوات أخرى	–	٠,٥	–	–	–	٥٠
– كورند بيف عبوات صفيح	–	٠,٥	–	–	–	١٠٠
– كورند بيف عبوات أخرى	–	٠,٥	–	–	–	٥٠
– شوربة مجففة	٠,٢	٠,٣	٥	٥	–	١٠٠
– سحق معلب	٠,١	٠,٥	١٥	٢٠	–	١٠٠
– سجق مجمد	٠,١	٠,٥	١٥	٢٠	–	٥٠
– الكبد والكلية ومنتجاتها	–	–	–	–	–	–

	زرنيخ	رصاص	نحاس	زنك	حديد	مجموع المعادن الثقيلة	لاتيمون
– لون بونسو ٤,٠	٣	١٠	١٠				
– لون أصفر الغروب	١	١٠	١٠				
– لون كارموزين	١	١٠	١٠				
– لون الاخضر الثابت	٠٣	١٠				٤٠	٥٠
– لون الاسود اللامع	٣	١٠					
– لون الأزرق اللامع	٣	١٠					
– لون طرطزين	٣	١٠					
– لون الازوجرانين	٣	١٠				٤٠	–
– ثانى أكسيد التيتانيوم	٥	٢٠	٥٠				١٠٠
– لون الاندويجوتين	٣	١٠					
– لون استر الايثيل لحمض الكاروتونيك بيتا ابو ٨	٣	١٠				٢٠	
– لون الاناتو	٣	١٠				٤٠	–
– لون بيتا ابو ٨ كاروتينال	٣	١٠				٢٠	–
– لون الاريثروزين	٣	١٠		٥٠		٤٠	–
– لون الكرامل	١	٢				٢٥	–
– لون الكركم	٣	١٠				٤٠	
– لون بيتا كاروتين المخلق	٢	١٠				٢٠	–
– حمض البنزويك	١	٥					
– حمض البروبيونيك	٢	١٠			٢		
– حمض الاسكوربيك	٢				٢	١٠	
– حمض الستريك	٠,٣				٥	١٠	
– حمض السوربيك	خالى	خالى				خالى	
– الخل	١	١			١٠	١٠	
– ثانى أكسيد الكبريت وحمض الكبريتوز	١						
– مكسبات الطعم والرائحة فى المياه الغازية	٠,٥	١,٥	١٠				
– مكسبات الطعم فى المسلى الصناعى والرائحة فى الصابون	٢	١٠	٣٠				
– مضادات الأكسدة فى الزيوت والدهون والصابون	خالية	خالية	خالية			خالية	
– الفاتوكوفيرول الراسيمى	٣	١٠				٢٠	

الاعتبارات الواجب مراعاتها عند تقدير الرماد الكلى

١- تتــراوح وزنة العينة الغذائية المراد تقدير محتواها من الرماد ما بــين ٢ ١٠ جرامات بصفة عامة ويتوقف مقدار الوزنة المأخوذة للتحليل على نسبة الرماد المتوقعة فى العينة.

٢- يجــب المحافظة على العينة الغذائية من التلوث بأى من العناصر المعدنية.

٣- المــاء المستخدم فى التجفيف يجب أن يكون ماء مقطرا خاليا من الأيونات Distilled deionized water.

٤- يجــب تجفيف العينة الغذائية قبل إجراء الحرق المبدئى مع تقدير نسبة الرطوبة فيها حتى يمكن حساب نسبة الرماد على أساس الوزن الجاف ويجــرى عــادة تقديــر محــتوى الرماد فى نفس العينة التى تم تقدير نسبة الرطوبة فيها.

٥- يجــب ترك العينات الغذائية المرتفعة في محتواها من السكريات فتــرة من الزمن حتى يتم تخمرها والتخلص من الفقاعات الغازية قبل إجراء الحرق المبدئى لها وذلك لتقليل ومنع حدوث أى فوران داخل فرن الحرق.

٦- العينات الغذائية المرتفعة فى نسبة الزيت أو الدهن تستغرق وقت أطول لإتمام عملية الحرق المبدئى، ولذا ينصح باستخلاص الزيت أو الدهن مــنها، كمــا يفضــل إجــراء الحرق المبدئى على درجة حرارة منخفضة وباستخدام لهب متحرك لتلافى اشتعال العينة.

٧- يفضــل إضافة جزء من الفازلين أو زيت زيتون خال من الرماد إلــى العيــنة أثناء إجراء عملية الحرق المبدئى وذلك لمنع حدوث فوران أو طرطشة ولتقليل درجة انتفاخ العينة عند الحرق.

٨- يمكــن تــرطيب الــرماد بالمــاء أثناء عملية الحرق المبدئى مع الاســتعانة بمحرك زجاجى للإسراع من العملية والمساعدة على عدم تطاير الرماد أثناء الوزن.

٩- فـــي حالة تكون كتل منصهرة أثناء الحرق في الفرن ينصح بترك العيـــنة حتى تبرد ثم تذاب الأملاح في الماء وترشح على ورق ترشيح خال من الرماد ashless ثم إعادة حرق الورقة بمحتوياتها.

١٠- يفضل أن يكون حجم البوتقة المستعملة متوسطا ما بين ٣٠-٥٠ ملليمتـــرا، ذات فوهة واسعة وقاع مسطح وغير قابلة للتفاعل مع الرماد أو التآكل ولا تفقد جزءاً منها أثناء عملية الحرق داخل الفرن.

وتخـــتلف أنـــواع البواتق المستخدمة تبعا لمواصفاتها، فهناك البواتق الكوراتـــز Quartz crucibles وهى مقاومة للأحماض والهالوجينات على درجـــات الحرارة العالية، وكذلك بواتق Vyrex Gooch وهى تتحمل حتى ٥٠٠م فقـــط، كمـــا تـــوجد بواتق البورسيلين porcilin وهى تشبه البواتق الكوارتـــز فـــى مواصـــفاتها ولكـــنها تتحطم مع التغير السريع في درجات الحـــرارة، كمـــا تـــوجد الـــبواتق الصلبة Steel crucibles وهى مقاومة للأحمـــاض والقلـــويات ولكنها تتركب من عنصرى الكروميوم والنيكل مما يعتبـــر مصـــدراً لتلوث العينة بهذه العناصر. وأخيرا توجد بواتق البلاتينيوم platininm وهى من أفضل أنواع البواتق ولكنها مكلفة للاستخدام الروتينى عند تقدير الرماد في عدد كبير من العينات الغذائية.

١١- يجـــب التأكد من عدم زيادة درجة حرارة فرن الحرق أكثر من اللازم ٥٥٠ ٦٠٠م حيث إن ارتفاع درجة الحرارة عن هذا المعدل يسبب:

أ تطايـــر بعـــض مكـــونات الـــرماد مثل الكلوريدات والصوديوم والبوتاسيوم.

ب- انصهار الرماد وتكوين كتلة صلبة مما يصعب من اكتمال عملية الحرق كما تتكون طبقة من الأكاسيد تحيط بالكتلة الصلبة.

ج- قـــد تـــتحول الكـــربونات إلى أكاسيد وتنصهر مركبات الفوسفور والفوسفات.

١٢- يجب عمل تكرار للعينة عند تقدير محتواها من الرماد ثم يحسب المتوســـط الحسابى وذلك لتلافى التفاوت في تقدير الفقد في المواد المتطايرة

أو اخـــتلاف مـــدى تحلل الكربونات أو احتمال امتصاص الرماد لجزء من رطوبة الجو أو وزن البواتق وهى ساخنة.

ويختلف تركيب ونسبة الرماد في الأغذية تبعا للعوامل الاتية:

١ - طبيعة المادة الغذائية.

٢ - عوامل خاصة بظروف عملية الحرق تشمل:

أ - طرق تجهيز العينة.
ب - طبيعة البوتقة التى يجرى فيها الحرق.
ج - درجة حرارة الحرق.
د - زمن الحرق.

وكمـــا ذكـــر ســـابقا فإن المواد الغذائية تختلف فيما بينها تبعا لنوعية العناصـــر المعدنية الداخلة في تركيبها ونسبة تلك العناصر، وبالتالي تتوقف موضـــة وقلـــوية الـــرماد على نوع المادة الغذائية ومن المعروف أن رماد الفـــواكه والخضـــراوات قلـــوى التأثير، أما رماد اللحوم ومنتجاتها وبعض الحبوب الغذائية نجد أنه حمضي التأثير وترجع قلوية الرماد لوجود أملاح الستريك والطرطريك والماليك والتى تتحول بالحرق إلى كربونات كذلك فإن كلوريد الصوديوم يسبب زيادة فى قلوية الرماد الناتج بعد الحرق.

وعـــادة تســـتمر عملـــية الحرق حتى تحصل على رماد خال من أى كربون مع تجانس اللون سواء كان أبيض اللون أو رماديا أو أحمر أو أزرق مخضر تبعا لنوع العنصر المعدنى السائد فى تركيب الرماد.

أهمية تقدير الرماد والعناصر المعدنية فى مجال التصنيع الغذائى

١ - يعبـــر محـــتوى المادة الغذائية من الرماد عن محتواها الكلى من العناصر المعدنية.

٢ - يســـتدل مـــن تقدير محتوى المادة الغذائية من الرماد على القيمة الغذائية لها.

٣- يســتفاد من تقدير الرماد فى الناتج النهائى لصناعة السكر والنشا والجيلاتــين والبكتين والخميرة فى ضبط عمليات التصنيع حيث يلزم أن يكون محتوى هذه المنتجات من الرماد منخفضا.

٤- يســتدل مــن نســبة الرماد بالدقيق فى صناعة الطحن على نسبة الاستخلاص.

٥- تقييم جودة العلائق المقدمة للدواجن والماشية.

٦- كشف الغش فى بعض المنتجات الغذائية.

٧- يمكن عن طريق تقدير قلوية الرماد التمييز بين خل الفاكهة والخل المقطــر كــذلك تقديــر الاتزان الحامضى القاعدى فى بعض المنتجات.

٨- كشف تلوث الأغذية بعناصر المبيدات الحشرية.

٩- للعناصر المعدنية أهمية حيوية تتلخص فيما يلى:

أ تعمل العناصر المعدنية كالكترولتينات.

ب- تدخل بعض العناصر فى تركيب الإنزيمات.

ج بعــض العناصر الغذائية مثل البولى سكريدات البروتينات ومشــتقاتها الفتيات الأحماض العضوية ترتبط مع بعض العناصر وقد يشجع ذلك أو يثبط امتصاصها فى جسم الإنسان.

د العناصر المعدنية قد تشجع أو تثبط النشاط الإنزيمى.

هـــ-العناصر المعدنية تؤثر على قوام الغذاء.

وجديــر بالذكــر فــإن نســبة الرماد والعناصر المعدنية تختلف بين المنتجات والمواد الغذائية تبعا لعدة عوامل تتلخص فيما يلى:

أ العوامل الوراثية.

ب- العوامل المناخية.

ج- المعاملات الزراعية.

د تركيب التربة الزراعية.

هـــ- درجة النضج للمحاصيل الزراعية عند الحصاد.

و معاملات التصنيع الغذائى.

قلوية الرماد Alkalinity of ash

تستخدم قلوية الرماد كدلالة على جودة الفاكهة وعصائرها ومن المعروف فإن أملاح السترات citrates والمالات malates والطرطرات Tratarates تكون كربونات.

وتتلخص الطريقة فيما يلي:

يوضع الرماد المتحصل عليه في طبق بلاتينيوم ثم يضاف ١٠ مل من محلول ٠,١ ع حمض هيدروكلوردريك Hcl. يضاف ماء مغلى ويسخن في حمام مائي ثم يبرد وتنقل المحتويات إلى دورق مخروطي، ثم يعادل الحمض الزائد بواسطة محلول ٠,١ ع أيدروكسيد صوديوم باستخدام دليل مثيل أورانج. ويعبر عن قلوية الرماد بعدد ملليترات محلول ٠,١ ع ايدوركسيد الصوديوم لكل ١٠٠ جرام عينة.

وهناك أربع طرق لتقدير الرماد الكلي في الأغذية هي:

- الحرق الجاف Dry ashing.
- الحرق الرطب wet ashing..
- الحرق باستخدام الحرارة المنخفضة Low temperature plasma ashing.
- الحرق بالميكروويف Micro wave ashing.

وعموما يمكن إيجاز هذه الطرق فيم يلي:

أولا: الحرق الجاف Dry ashing

ويتم حرق العينة في بوتقة داخل فرن الحرق Muffle furnace على درجة حرارة ٥٢٥ ٥٠٠ْم حيث تتبخر الرطوبة والمواد الطيارة، بينما تحرق المادة العضوية وتتأكسد إلى ثاني أكسيد الكربون وأكاسيد نيتروجينية تتطاير أثناء الحرق، بينما تتحول العناصر المعدنية إلى أكاسيد Oxides وكبريتات Sulfates فوسفات Phosphates كلوريدات Chlorides سليكات Silicates.

وتتلخص الطريقة فيما يلى:

١- يــزن ٥ ١٠ جــرامات من العينة الغذائية الجافة فى بوتقة ثم يجرى عليها عملية الحرق المبدئى على لهب بنزن.

٢- ضع البوانق فى فرن الحرق nuffle furnace على درجة ٥٢٥ ٥٥٠ْم لمدة ١٢ ١٨ ساعة.

٣- بــرد الفــرن حتى ٢٢٠م ثم افتح الفرن، ويراعى عدم فتح الفرن قبل ذلك حتى لا يحدث تطاير للرماد وفقد فى كميته.

٤- تــنقل الــبوانق سريعا مغطاة إلى مجفف زجاجى تمهيدا لعمليات الوزن على الميزان الحساس.

٥- احسب نسبة الرماد كما يلى:

$$\text{نسبة الرماد على أساس الوزن الجاف} = \frac{\text{الوزن الجاف} \quad \text{وزن البوتقة فارغة}}{\text{وزن العينة الرطبة} \times \text{معامل المادة الجافة}} \times ١٠٠$$

معامل المادة الجافة = نسبة المواد الصلبة ÷ ١٠٠

ثانيا: الحرق الرطب Wet ashing

وفــيه يــتم أكســدة المركبات العضوية باستخدام أحماض أو عوامل مؤكسدة Oxidizing agents أو كليهما ثم تذاب العناصر المعدنية، وتسمى هــذه الطريقة بالأكسدة أو الهضم الرطب Wet oxidation or digestion كمــا أن هذه الطريقة تستخدم عند تقدير وتحليل العناصر المعدنية أو تحليل التسمم المعدنى.

وجديــر بالذكر فإن استخدام حمض واحد فى عملية الهضم أو الأكسدة لا يعطــى أكســدة ســريعة وكاملــة للمواد العضوية، بينما يستخدم حمض النيتــريك مــع حمــض الكبريتيك أو البيركلوريك وكلورات البوتاسيوم أو كبــريتات البوتاســيوم، ويعتبر مخلوط حمض النيتريك مع البيركلوريك من أســرع الجواهــر المســتخدمة فى عملية الأكسدة أو الهضم وذلك بالمقارنة بمخلوط حمض الكبريتيك مع النيتريك.

وتتلخص الطريقة فيما يلى:

١- يزن جرام من العينة الجافة فى كأس زجاجى سعة ١٥٠ مل.

٢- يضاف ١٠ مل حمض نيتريك HNO_3 ويترك فترة تصل إلى ٢٤ ساعة إذا احتوت العينة على زيت أو دهن.

٣- يضاف ٣ مل من محلول ٦٠% حمض بيركلوريك $HClO_4$ ثم يسخن ببطء على درجة ٣٥٠م حتى يتبخر حمض النيتريك.

٤- استمر فى عملية التسخين والغليان حتى تصاعد أدخنة، حمض البيركلوريك ثم ضع زجاجة ساعة على الكأس حتى تصبح العينة عديمة اللون. مع مراعاة عدم جفاف العينة.

٥- يترك الكأس حتى يبرد ثم تغسل زجاجة الساعة بأقل كمية من الماء المقطر الخالى من الأيونات distilled deionized water ثم يضاف ١٠ مل من محلول ٥٠% حمض كلوريديك Hcl.

٦- تنقل المحتويات إلى دورق معيارى سعة ٥٠ مل ويخفف بالماء المقطر.

ثالثا: طريقة الحرق باستخدام درجة الحرارة المنخفضة

Low temperature plasma ashing

وفى هذه الطريقة يستخدم جهاز زجاجى مفرغ بواسطة مضخة تفريغ وفيه يتم إدخال كمية صغيرة من الأكسوجين كمشجع لعملية الحرق ودرجة الحرارة المستخدمة ١٥٠م أو أقل ومن مميزات هذه الطريقة تقليل فرصة تطاير العناصر بالمقارنة بطرق الحرق الجاف.

رابعا: طريقة الحرق بالميكروويف Microwave ashing

وهنا تستخدم أشعة الميكروويف فى عملية الهضم أو الأكسدة، ومن مميزات هذه الطريقة تقليل الوقت اللازم إذ تصل إلى ٤٠ دقيقة وهو ما يعادل ٤ ساعات باستخدام طريقة أفران الرماد muffle furnace.

تقدير الرماد القابل للذوبان وغير القابل للذوبان فى الماء

Soluble and insoluble ash in water

يســتخدم هــذا التقديــر كدلالة على نسبة الفاكهة فى منتجات الأغذية المحفوظة والجيلى. وتتلخص طريقة التقدير فيما يلى:

١- يجرى حرق العينة فى فرن الرماد ويقدر الرماد الكلى.

٢- أضف ١٠ مل ماء مقطر إلى البوتقة.

٣- تغطى البوتقة بزجاجة ساعة ويسخن حتى الغليان.

٤- تمزج المحتويات جيدا ثم يرشح على ورق ترشيح خال من الرماد ashless ثم تغسل ورق الترشيح بماء مقطر ساخن عدة مرات.

٥- تجفــف ورق الترشيح، ثم أعد الحرق لورقة الترشيح ومحتوياتها لمدة ٣٠ دقيقة.

٦- وزن الــرماد المتحصل عليه واحسب النسبة المئوية للرماد غير القابل للذوبان فى الماء.

٧- احسب النسبة المئوية للرماد القابل للذوبان فى الماء بالطرح من نســبة الرماد الكلى للعينة أو جفف الراشح فى خطوة (٤) ثم أعد الوزن.

الرماد غير القابل للذوبان فى الأحماض Insoluble ash in acid

وهــذا التقديــر يفيد فى تقدير التلوث السطحى للفاكهة والخضراوات والقمــح والأرز وغالبا ما تكون الملوثات سسليكات غير القابلة للذوبان فى الأحماض فيما عدا حمض البروميك HBr.

وتتلخص الطريقة فيما يلى:

يضــاف ٢٥ مل من محلول ١٠% حمض الأيدروكلوريك إلى الرماد الكلى أو الرماد غير القابل للذوبان فى الماء ثم يغطى ويغلى لمدة ٥ دقائق،

ثـم يرشح على ورق ترشيح خال من الرماد وتغسل الورقة عدة مرات بماء مقطر ساخن، ثم يعاد الحرق للورقة ومحتوياتها لمدة ٣٠ دقيقة. يوزن الرماد المتحصل عليه وتحسب نسبته.

تقدير بعض العناصر المعدنية

أ تقدير الحديد فى الأغذية ومنتجاتها

١- توزن العينة الغذائية بما يوازى ٥٠ ٥٠٠ ميكروجرام حديد فى بوتقة نظيفة جافة.

٢- يضاف ١٠ مل من مخلوط جليسرول، ايثانول (١ : ١) ثم يجفف على نار هادئة ثم تجرى عملية الحرق فى فرن الرماد على درجة ٦٠٠م لمدة ٢٤ ساعة.

٣- بعـد انـتهاء الحرق يضاف ١ مل حمض نيتريك مركز ثم يبخر للجفاف.

٤- أعـد عملـية الحـرق لمـدة ساعة ثم برد وأضف ٥ مل حمض هيدروكلوريك ٦ع وسخن فى حمام مائى لمدة ١٥ دقيقة.

٥- رشح خلال ورق ترشيح رقم ١٠٠ فى دورق معيارى سعة ١٠٠ مل وأكمل إلى العلامة بالماء المقطر.

٦- خذ ١٠ مل من الراشح فى دورق معيارى سعة ٢٥ مل ثم أضف ١ مـل مـن محلـول ١٠% هيدروكسـيل أمـين هيدروكلوريد Hydroxylamin hydrochloride ثم يترك بعض الوقت.

٧- أضف ٥ مل من محلول منظم أسيتات Buffer acetate (محضر مـن إذابة ٨,٣ جرام خلات صوديوم فى ٢٠ مل ماء فى دورق معـيارى سعة ١٠٠ مل ثم يضاف ١٢ مل حمض خليك ويكمل الدورق للعلاقة.

٨- يضاف جوهر كشاف مظهر للون ١ مل من محلول ٠,١% اورثو فيناترولين أو ٢ مل من محلول ٠,١% محلول α α داى بيريديل

ثم يقاس الامتصاص الضوئى فى جهاز الاسبكتوفوتومتر بعد ٣٠ دقيقة على طول موجة ٥١٠ نانوميترا.

عمل المنحنى القياسى للحديد:

١- يـــذاب ٠,١ جـــرام مـــن عنصـــر حديد نقى فى ٢٠ مل حمض هـــيدروكلوريك مركز ثم يخفف فى دورق معيارى سعة لتر إلى العلاقة. هذا المحلول الأساسى تركيزه ١٠٠ جزء فى المليون.

٢- تحضـــر تركيزات من المحلول الأساسى السابق بأخذ ٢، ٥، ١٠، ١٥، ٢٠، ٢٥، ٣٠، ٣٥، ٤٠، ٤٥ مل فى دوارق معيارية سعة كـــل منها ١٠٠ مل ثم يضاف ٢ مل حمض هيدروكلوريك مركز ويخفف ويكمل إلى العلاقة بالماء المقطر.

٣- يؤخذ ١٠ مل من كل تركيز من التركيزات السابقة وتجرى عليها التجربة كما فى الخطوات السابقة.

٤- يوقع قيم الامتصاص .O.D مع التركيزات ونحصل على منحنى يـــربط العلاقة بينهما ومن هذا المنحنى يمكن حساب تركيز العينة المجهولة.

تقدير الصوديوم فى الأغذية

يمكـــن تقديـــر ملـــح كلوريد الصوديوم ص كل Nacl بإجراء معادلة لأيون الكلوريد بواسطة الفضة، ونقطة التعادل فى هذا التفاعل تتكون عندما يـــتحول كل أيونات الكلوريد إلى مركب معقد وفى وجود الزيادة من الفضة يـــتكون كرومات الفضة، ويجب أن يكون الماء المستخدم فى التجربة سابق غليانه حتى يمكن تلافى تداخل الكربونات الموجودة فى الماء.

وتتلخص طريقة موهر Mohr لتقدير الملح فيما يلى:

١- زن ٥ جـــرام من العينة الغذائية فى دورق مخروطى سعة ٢٥٠ مللى ثم أضف ١٠٠ مللى ماء مغلى ثم يترك ٥ ١٠ دقائق.

٢- يضاف ٢ مللى من محلول ٥% كرومات بوتاسيوم ثم تعادل محتويات الدورق بواسطة محلول ٠,١ ع نترات فضة حتى ظهور اللون البرتقالى.

٣- تقدر عيارية محلول نترات الفضة كما يلى:

أ يوزن ٣٠٠ ملجرام كلوريد بوتاسيوم نقى فى دورق مخروطى سعة ٢٥٠ مللى مستخدما ٤٠ مللى ماء مقطر، ثم يضاف ١ مللى كرومات بوتاسيوم ويعادل محتويات الدورق بواسطة محلول نترات الفضة المراد تقدير تركيزه العيارى ويعتمد حجم نترات الفضة (ح١).

ب- يجرى معايرة ٧٥ مللى ماء يحتوى على ١ مللى كرومات البوتاسيوم وذلك بواسطة نترات الفضة ويعين حجم محلول النتراست ثم يخصم هذا الحجم من قيمة ح١.

ج- احسب عيارية نترات الفضة من المعادلة التالية:

$$\text{عيارية نترات الفضة} = \frac{\text{ملجرام كلوريد البوتاسيوم}}{\text{حجم نترات الفضة} \times ٧٤,٥٥٥}$$

٤- تحسب نسبة ملح كلوريد الصوديوم فى العينة الغذائية كما يلى:

$$\text{نسبة الملح} = \frac{\text{حجم نترات الفضة فى التجربة} \times \text{التركيز العيارى} \times ٥٨,٥ \times ١٠٠}{\text{وزن العينة بالجرام} \times ١٠٠٠}$$

حيث ٥٨,٥ = عبارة عن الوزن المكافئ لكلوريد الصوديوم.

تقدير كلوريد الصوديوم بطريقة Volhard titration

١- يتم ترطيب ٥ جرام عينة غذائية فى بوتقة صينى بحوالى ٢٠ مللى من محلول ٥% كربونات صوديوم ثم يبخر حتى الجفاف ثم يسخن على Hot plate حتى يقف تصاعد الدخان.

٢- أجر عملية الحرق على درجة ٥٠٠°م لمدة ٢٤ ساعة.

٣- أذب الرماد المتبقى فى ١ مللى من محلول ٥ع حمض نتريك ثم خفف إلى ٢٥ مللى بالماء المقطر.

٤- عادل محتويات الدورق باستخدام محلول نترات فضة قياسي حتى يترسب كلوريد الفضة ثم رشح واحصل على الراسب.

٥- أضف ٥ مللى من محلول ١٢ عيارى حمض نتريك. ثم عادل الزيادة من الفضة بواسطة محلول ٠,١ ع من ثيوسيانات البوتاسيوم واحسب الحجم ح.

٦- قدر عيارية محلول ثيوسيانات البوتاسيوم كما يلى:

خذ ٤٠ ٥٠ مللى من محلول نترات الفضة ثم أضف ٢ مللى من دليل $Fe\ NH_4\ (SO_4)\ 12H_2O$، ٥ مللى من محلول ٩ ع حمض نيتريك ثم عادل المحتويات بواسطة محلول ثيوسيانات البوتاسيوم.

٧- احسب تركيز الكلوريد كما يلى:

يحسب حجم نترات الفضة المستهلك وذلك بطرح حجم المعايرة مع الثيوسيانات من حجم نترات الفضة الكلى فى خطوة رقم ٦.

وعلى أساس أن كل ١ مللى محلول نترات فضة ٠,١ ع يكافئ ٣,٥٠٦ ملجرام كلوريد يمكن حساب كمية الكلوريد بالمليجرام فى العينة الغذائية بضرب هذا المعامل فى حجم نترات الفضة المستهلك.

تقدير الفوسفور فى الأغذية

يمكن تقدير الفوسفور فى العينات الغذائية بطريقة لونية تعتمد على قياس كثافة لون مركب فوسفو موليبدوفاندات phosphomolybdo vanadate ومن منحنى قياسى يمكن تقدير الفوسفور كميا. وتتلخص الطريقة فيما يلى:

١- ضع ٢ جرام عينة غذائية فى بوتقة ثم أحرق العينة على درجة ٦٠٠م لمدة ٤ ساعات، ثم برد وأضف ٥ مللى من محلول ٦ عيارى حمض أيدروكلوريك وبعض نقط من حمض نتريك.

٢- سخن حتى تمام ذوبان الرماد المتكون ثم برد وانقل كميا إلى دورق معيارى سعة ١٠٠ مللى ثم خفف بالماء المقطر.

٣- خذ حجم من المحلول السابق يكافئ مستوى الفوسفور حوالى ٠,٥ ١,٥ ملجرام فى دورق معيارى بسعة ١٠٠ مللى ثم أضف ٢٠ مللـــى دليل فانديوم موليبدات ثم خفف إلى العلامة بالماء المقطر ويترك ١٠ دقائق حتى يتكون اللون.

٤- يقاس كثافة اللون .O.D على طول موجى ٤٠٠ نانوميتر.

٥- أجر عمل منحنى قياسى للفوسفور كما يلى:

أ أذب ٨,٧٨٧٤ جرام فوسفات بوتاسيوم أحادى فى دورق معيارى سعة لتر وهذا يعبر عن تركيز مقداره ٢ ملجرام فوسفور لكل واحد مللى من المحلول. يحفظ المحلول فى الثلاجة .

ب- يجرى عمل تركيزات من هذا المحلول الأساسى حيث ينقل أحجام ٥، ٨، ١٠، ١٥ مللـــى إلـــى دوراق معيارية سعة ١٠٠ مللى و هذه الأحجام يعبر عن تركيزات ٠,٥، ٠,٨، ١، ١,٥ ملجرام فوسفور.

ج يضـــاف ٢٠ مـــل موليبدات الفانديوم بكل تركيز من التركيزات السابقة ثم يجفف بالماء حتى العلامة مع المزج جيدا.

د اتـــرك الـــدوارق ١٠ دقائـــق حتى يتكون اللون ثم يقاس قيم الـــ .O.D على طول موجى ٤٠٠ نانوميتر ثم يرسم المنحنى القياسى الذى يربط العلاقـــة بين قيم .O.D وتركيز الفوسفور ويستخدم هذا المنحنى فى حساب وتقدير كمية الفوسفور فى العينة المجهولة.

تقدير الكالسيوم والسليكون

نظـــرا لوجـــود الفوســـفاتات فى رماد النبات. يلزم الحيطة عند تقدير الكالســـيوم والمغنســـيوم لمـــنع رسوب الفوسفات مع العنصرين. إذ ترسب فوســـفات الكالسيوم والمغنسيوم مع أكسالات الكالسيوم عند ترسيب الأخيرة فـــى وســـط مـــتعادل أو قلوى. لهذا يلزم تحديد ظروف التفاعل التى عندها ترسب الأكسالات دون رسوب فوسفاتات معادن الأراضى القلوية. ويتحصل علـــى ذلك بإجراء الترسيب فى وسط مائل للحموضة الضعيفة، حيث ترسب

أكسالات الكالسيوم عند pH ٤ إذ إنه يستحيل ترسيب فوسفات الكالسيوم أو المغنسيوم على درجة pH بين ٤، ٥ فبذلك يضمن رسوب كل أكسالات الكالسيوم. ويلاحظ أن الراسب فى هذا التفاعل يتضمن حديد الرماد على صورة فوسفات وهذا لا يتعارض مع تقدير الكالسيوم بالطريقة الحجمية أى بمعادلة الأكسالات بمحلول معلوم القوة من فوق برمنجات البوتاسيوم.

ولضمان رسوب جميع الكالسيوم وتمام انفصال أكسالات الكالسيوم عن المغنسيوم يلزم التحكم فى التفاعل عند الترسيب، فيستعمل دليل أخضر البروموكريزول للاستدلال على درجة الحموضة، كما أنه ينصح بالتغلب على تأثير الفوسفاتات عند وجودها بتركيزات متفاوتة فى العينات فى تغيير قدرة المنظمات buffers الموجودة فى المحاليل بتعديل كميات خلات الصوديوم الموجودة فى المحاليل وبالاسترشاد بلون دليل أحمر الميثايل.

ويلاحظ أنه فى حالة ارتفاع نسبة المغنسيوم فإن جزءا منه يترسب مع أكسالات الكالسيوم وكذا فى حالة الرغبة فى الحصول على نتائج دقيقة يذاب الراسب ويعاد ترسيبه مرة أخرى.

طرق تقدير الكالسيوم

١- التقدير فى الأنسجة النباتية بالتعادل

يحرق ١٠ ٥٠ جراماً من المادة فى طبق بلاتين مسطح القاع داخل فرن الحرق على درجة حرارة ٥٥٠م حتى يحصل على رماد أبيض أو مبيض اللون. (ويجب تحاشى استعمال أطباق البلاتين فى حرق المواد النباتية ذات النسبة المرتفعة من الحديد، ويحسن استعمال بواتق من الصينى مع إجراء اختبار blank). يرطب الرماد بحوالى ٥ ١٠سم٣ حامض يد كل ويغلى المخلوط لمدة دقيقتين ويبخر للجفاف، ثم يسخن على حمام مائى ثلاث ساعات لتحويل س أ٢ إلى حالة غير قابلة للذوبان. يعاد ترطيب المتبقى بخمسة سنتيمترات حامض يد كل ويغلى لمدة دقيقتين ويضاف حوالى ٥٠سم٣ ماء ويسخن على حمام مائى بضع دقائق ويرشح خلال ورق ترشيح ويغسل جيدا. يضاف لهذا الرشح ما يترشح من ترسيب وتقدير س أ٢

(فـــي الخطوة ب) مضاف إليه ماء الغسيل ، يخفف المحلول إلى ٢٠٠ سم٣. يسمى هذا محلول " أ ".

أ – الرمل: ينقل الراسب من على ورقة الترشيح بالماء إلى طبق حرق ويغلـــي لمدة خمس دقائق تقريبا مع حوالي ٢٠ سم٣ من محلول ص٢ ك أ٣ ويضـــاف بضـــع نقـــط من محلول ص أ يد ١٠% ويترك المحلول ليرسب الراســـب. يرشـــح خلال بوتقة جونش مثبت وزنها. يغلي الراسب في طبق الحـــرق مـــع ٢٠ سم٣ كربونات صوديوم أحادى ويترك قليلا ويرشح كما سبق. تكرر العملية.

ب – س أ٢ الـــذائب فـــي القلوى: يؤخذ الراشح القلوى مضافا إليه ماء الغســـيل ويحمـــض بحامض يد كل ويبخر للجفاف ويضاف ٥ سم٣ يد كل ويبخـــر ثانـــية ثـــم يسخن الراسب على درجة ١١٠ – ١٢٠م لمدة ساعتين للتجفـــيف. يرطب الراسب بحوالي ٥ – ١٠ سم٣ يد كل ويغلي لمدة دقيقتين ويضـــاف حوالي ٥٠ سم٣ ماء ويسخن المحلول على حمام مائي مدة ١٠ – ١٥ دقـــيقة ويرشـــح خـــلال ورق ترشيح عالي الرماد أو خلال بوتقة مثبتة الـــوزن ويغســـل الراسب بالماء الساخن ويحرق ويوزن س أ٢ المتخلف. أما الراشح فيضاف إلى المحلول " أ ".

يؤخذ حجم معلوم من المحلول " أ " ويوضع في كأس سعة ٢٠٠ سم٣ ويضاف ماء إذا لزم لجعل الحجم ٥٠ سم٣. يغلي المحلول ويضاف ١٠سم٣ محلـــول أكسالات أمونيوم مشبع ونقطة من محلول الميثايل. يعادل المحلول بالأمونـــيا مـــع الغلـــيان حتـــى تتكون حبيبات الراسب الكبيرة الحجم. يبرد المحلول ويضاف حمض الكبريتيك حتى يصير اللون ورديا ويترك المحلول لمدة ٤ ساعات على الأقل. يرشح المحلول ويغسل الراسب بالماء البارد حتى تمـــام التخلص من الأكسالات. تثقب ورقة الترشيح ويعاد الراسب إلى كأس الترسيب بواسطة حمض الكبريتيك ويسخن لدرجة ٩٠م ويضاف حوالي ٥٠ ســـم٣ ماء ساخن، ويعادل المحلول بواسطة برمنجنات بوتاسيوم ٠,٠٥ سم. أخيـــرا تضـــاف ورقـــة الترشيح للمحلول ويستمر في التعادل. تحسب نسبة الكالســـيوم علـــى أساس أن (كل ١ سم٣ بوم أ٤ ٠,٠٥ ع يعادل ١ ملجرام / كالسيوم).

٢- التقدير بالوزن

يمكن تقدير الكالسيوم فى الرماد بإذابة هذا الرماد فى حامض يد كل وتحويل السليكا إلى صورة غير قابلة للذوبان بالتبخير للجفاف مرتين مع حامض هيدروكلوريك مركز. ويمكن إذابة الرماد بإضافة ١ سم٣ حامض يد كل مركز ويليه حامض يد كل مخفف أو ماء. يغلى المحلول ويضاف خلال امونيوم وأكسالات أمونيوم لترسيب الكالسيوم يغسل الراسب بمحلول أكسالات امونيوم ٢% ويجفف ويحرق. يبرد الرماد ويرطب بحامض نتريك مخفف لتحويله إلى نترات يعاد حرقها حتى يثبت الوزن وتوزن كأكسيد كالسيوم. ويساعد حامض النتريك على سرعة تحويل الكالسيوم إلى أوكسيد عند الحرق. ويمكن حساب كمية الكالسيوم بضرب كمية اكسيد الكالسيوم فى معامل التحويل ٠,٧١٤٧

$$\left[\frac{\text{الوزن الجزيئى للكالسيوم}}{\text{الوزن الجزئى لأكسيد الكالسيوم}}\right]$$

تقدير المغنسيوم

يقدر المغنسيوم بترسيبه على صورة فوسفات المغنسيوم والأمونيوم من راشح الكالسيوم مع استعمال السترات لمنع رسوب آثار الحديد والألمونيوم الموجودة فى المحلول. وهذه طريقة بسيطة غير أنها عرضة لنوعين من الخطأ، أولهما أن راسب فوسفات المغنسيوم والأمونيوم غير ثابت التركيب بسبب زيادة أملاح الأمونيوم فى المحلول ويتغلب على هذا الخطأ بإجراء الترسيب فى محلول ساخن أو بإذابة الراسب جميعه وإعادة ترسيبه مرة أخرى. والخطأ الثانى ينشأ عن رسوب فوسفات المنجنيز والأمونيوم مع راسب المغنسيوم. ويلاحظ أن جزءا من المنجنيز يرسب على صورة أكسالات ويقدر مع الكالسيوم. ولتلافى الخطأ يمكن تقدير كمية المنجنيز فى الراسب المستعمل بطريقة مقارنة الألوان.

فى حالة معرفة نسبة الفوسفور فى الرماد يمكن ترسيبه كميا من المحلول على صورة فوسفات حديديك، وكذلك يمكن فصل المنجنيز على صورة أكسيد. وبهذا يمكن تقدير الكالسيوم والمنجنيز فى المحلول المتبقى.

ويمكـــن الحصول على نتائج دقيقة للكالسيوم وخصوصا للمغنسيوم بترسيب كـــل الفوســـفور على صورة فوسفات حديد عند درجة pH ٥ – ٦ بإضافة الكمـــية المحســـوبة من كلوريد الحديديك التي تكفي للاتحاد بالفوسفات، وفي هذه الحالة ترسب الزيادة من الحديد على صورة أيدروكسيد حديديك. ويلزم قياس حجم محلول كلوريد الحديديك إلى أقرب ملليلتر لتحاشي استعمال كمية أكبر من اللازم ولتقليل كمية الراسب المتحصل عليها ولا داعي عند الحساب أن تـــؤخذ كميـــتا الحديد والألومنيوم الموجودتان طبيعيا في رماد النبات في الحســـبان. ويراعـــى أثناء فصل الفوسفات بهذه الطريقة أنه لا يجوز غليان المحلـــول أو تسخينه مدة طويلة منعا لصعوبة ترشيح راسب الحديد مستقبلا. ويمكـــن قـــبل فصل راسب الحديد بالترشيح أن يفصل راسب المنجنيز أيضا باســـتعمال ماء البروم وتحديد رقم pH. ويحسن إعادة ذوبان راسب الحديد وإعـــادة ترســـيبه لاســـتخلاص أكبر كمية ممكنة من الكالسيوم والمغنسيوم المخـــتلطة براسب الحديد، وبعد التخلص من الحديد والألومنيوم والمنجنيز والفوســـفور يمكن ترسيب الكالسيوم على صورة أكسالات والمغنسيوم على صـــورة فوســـفات المغنســـيوم والألومنـــيوم أو مـــن الأفضل على صورة hydroxy quinotate.

طريقة التقدير

يـــؤخذ الراشـــح المتبقـــي بعد تقدير الكالسيوم ويضاف إليه ٣٠ سم٣ حـــامض نيتريك ويبخر للجفاف للتخلص من أملاح الأمونيوم. يذاب الراسب في ٥ سم٣ حامض الكلوردريك ويكمل الحجم إلى ١٠٠ سم٣ بالماء ثم يضاف ٥ ســـم٣ من محلول سترات الصوديوم تركيز ١٠%، ١٠ سم٣ من محلول فوسفات الأمونيوم الثنائية تركيز ١٠% أو ما يكفي لترسيب كل المغنسيوم. يضـــاف أيدروكسيد الأمونيوم مع استمرار التحريك حتى يصبح المحلـــول قلـــوياً خفـــيفاً ويتكون الراسب، يضاف ٢٥ سم٣ أيدروكسيد أمونيوم ويقلب المحلـــول بشـــدة حتى تظهر حبيبات الراسب ويترك المحلول في مكان بارد طـــول الليل بعدها يرشح ويغسل بمحلول أيدروكسيد أمونيوم بارد (١٠١١) للـــتخلص مـــن الكلـــوريد. يحـــرق الراسب ويوزن على هيئة بيروفوسفات المغنسيوم وتحسب نسبة المغنسيوم.

تقدير الصوديوم والبوتاسيوم

يمكن تقدير البوتاسيوم مباشرة فى محلول رماد النبات بطريقة فوق الكلورات أو بطريقة نيتريت الكوبالت. ولكل من الطريقتين مزايا أهمها انفصال كلوريد البوتاسيوم عن كلوريد الصوديوم. وفى حالة استخدام طريقة فوق الكلورات وجد أن الكبريتات تتعارض مع تقدير البوتاسيوم. ولهذا يلزم فصلها أولا على صورة كبريتات باريوم. أما الفوسفات فلا تتعارض مع التقدير بشرط استخدام كمية من حامض فوق الكلودريك أكثر من اللازم للترسيب.

ولا تتعارض الكبريتات مع طريقة التقدير الحجمية باستخدام نيتريت الكوبلت.

وقد وجد أن أفضل وأدق الطرق المستخدمة فى تقدير البوتاسيوم فى رماد النبات هى الطريقة الوزنية حيث يستفاد فى طريقة krugel and Retter هذه من مزايا كل من الطريقتين السابقتين مع تلافى عيوبهما. يفصل البوتاسيوم كميا على صورة sodium potassinm cobaltinitrite من محلول حمضى خفيف يحتوى على الحديد والألومنيوم والكالسيوم والمغنسيوم والفوسفات والكبريتات، غير أن تركيب الراسب سوف يختلف تبعا لطبيعة المحلول وكمية البوتاسيوم الموجودة والجوهر الكشاف المستعمل وظروف الترسيب وعوامل أخرى كثيرة. وتعتبر الطريقة المذكورة مناسبة فقط فى حالة إمكان التحكم فى جميع هذه الظروف مع أخذ نسبة الصوديوم إلى البوتاسيوم فى الراسب فى الاختبار. وعموما تعتبر هذه الطريقة من الطرق المفضلة. ويتحصل على نتائج حسنة إذا كانت المحاليل ليست مخففة جدا مع استعمال زيادة من محلول الترسيب. وبالرغم من أن الراسب تركيبه غير ثابت إلا أنه يمكن تقدير البوتاسيوم فيه باستخدام طريقة فوق الكلورات بعد فصل جميع المواد وأهمها الكبريتات التى تتعارض مع التقدير بهذه الطريقة. ووجد أن الكوبلت فى الراسب لا يتعارض مع التقدير فوق الكلورات إذ إن فوق كلورات الكوبلت تذوب بسهولة فى الكحول. والمعروف أن فوق كلورات البوتاسيوم ثابتة التركيب ويمكن الحصول منها على نتائج دقيقة للبوتاسيوم.

وقــد وجــد أن فصــل البوتاسيوم عن الكبريتات بالطريقة المزدوجة المذكورة تحول دون حدوث خطأ ناشئ عن احتجاز جزء من البوتاسيوم فى راسب كبريتات الباريوم ولا يتعارض وجود أملاح الأمونيوم فى المحلول الأصــلى مــع التقدير لأنها تتطاير أثناء العمل. وفى حالة رسوب جزء من الأمونـيوم مــع البوتاسيوم المتحد مع نتريت الكوبلت فإن إذابة الراسب فى حــامض كلوروديك وتسخينه بشدة عن تسخين مساعد حامض نتروز الذى يتفاعل مع الأمونيا منتجا نتيروجين حرا.

وأفضــل محلول لغسل راسب نتريت الكوبلت هو الماء المشبع بملح Na K cotaltinitrite أو محلــول كحولــى ٣٥% حــيث يقــل ذوبان الراســب فى هذين المحلولين. ويعاب على هذه الطريقة أن المحلول المائى المشــبع بــالملح يــتحلل ببطء خلال ساعات قليلة بينما نجد أن الترشيح فى صحة المحلول الكحولى بطىء ولذا فيمكن استخدام محلول حامض خليك ٥% للغسيل الذى لا يلزم أن يكون جيدا فى هذه الحالة. وقد وجد أن الفقد فى الراســب أثــناء الغسل بهذا الجوهر لا يسبب خطأ ملموسا بشرط استعمال حجــوم صــغيرة. ولن يتعارض بقاء زيادة من محلول الترسيب مع طريقة التقدير باستخدام فوق الكلورات.

وفــى حالــة الترســيب يستحسن استعمال محاليل منفصلة من نترات الكوبلت ونيتريت الصوديوم حيث تنتج محاليل أملاح ثابتة.

عــند إذابة الراسب الناتج بعد التبخير وقبل الترسيب بنترات الكوبلت ونتــريت الصــوديوم يجــب الحــذر لتحاشــى حدوث تحلل لأملاح الحديد والألومنــيوم وذلــك بإضــافة نقطة أو نقطتين من حامض الكلوردريك مع حــامض الخلــيك قبل الماء وذلك لتحاشى بطء عملية الترشيح. وفى جميع طــرق تقدير البوتاسيوم يلزم الحذر من امتصاص أمونيا من جو المعمل بعد طردها من المحلول إذ قد يعطى ذلك نتائج مرتفعة للبوتاسيوم.

طريقة التقدير باستعمال فوق الكلورات

يبلل ١ ١٠ جم من المادة بحامض كبريتيك (١ + ١٠) وتجفف فى الفرن وتحرق فى فرن الحرق على درجة حرارة منخفضة لحين التخلص من المادة العضوية. يسخن المتبقى على حمام مائى مع ٢ ٥ سم٣ حامض يد كل وحوالى ٥٠ سم٣ ماء. ينقل محتويات البوتقة إلى كأس ويضاف أيدروكسيد أمونيوم نقطة فنقطة حتى يصبح المحلول حمضياً ضعيفاً. يسخن المحلول لقرب الغليان ويضاف ن يد٤ أ يد لترسيب كل الحديد والألومنيوم وغيرها. يغلى المحلول لمدة دقيقة واحدة تقريبا فى كأس مغطى، وفى حالة توقف تصاعد الأمونيا يعاد إضافة نقط الأمنيوم حتى يمكن للاستدلال على تصاعدها بالشم. يستمر فى التقليب ويرشح المحلول فورا ويغسل بالماء الساخن عدة مرات. يعاد الراسب لكأس الترسيب ويذاب فى بضع نقط فى حامض الكلودريك ويدفأ المحلول ويعاد ترسيب الحديد والألومنيوم والفسفور باستعمال الأمنيوم كما سبق يرشح المحلول ويغسل الراسب حتى تمام التخلص من الكلوريد. يبخر الراشح وماء الغسيل حتى الجفاف ويسخن على درجة حرارة أقل من ٥٠٠ مئوية حتى التخلص من أملاح الأمنيوم يلى ذلك إذابة الراسب فى الماء الساخن وإضافة ٥ سنتيمترات مكعبة من محلول أيدروكسيد الباريوم المشبع والتسخين للغليان وترك المحلول بضع دقائق للترسيب. يختبر لتمام الترسيب بإضافة زيادة من محلول أيدروكسيد الباريوم بقليل من السائل الرائق. وفى حالة تمام الترسيب يرشح المحلول ويغسل الراسب جيدا بالماء. يغلى الراشح ويضاف إليه أيدروكسيد أمونيوم (١ + ٤) ومحلول كربونات أمنيوم ١٠% لإتمام ترسيب الباريوم والكالسيوم وغيرهما ثم يترك المحلول قليلا على حمام مائى ويرشح وتغسل جيدا بالماء الساخن. يبخر الراشح وماء الغسيل للجفاف ويتخلص من أملاح الأمنيوم بالتسخين على درجة حرارة أقل من ٥٠٠ ويضاف قليل من الماء الساخن وتوضع نقط من محلول أيدروكسيد الأمنيوم المخفف ونقطة أو نقطتان من محلول كربونات الامنيوم وتوضع نقط من محلول أكسلات الأمنيوم المشبع. يترك المحلول بضع دقائق على حمام مائى ثم يترك جانبا بضع ساعات. يرشح المحلول ويبخر للجفاف تماما على حمام

مائـــى ويسخن على درجة حرارة أقل من ٥٠٠ حتى يتخلص من كل أملاح الأمنيوم، ويتبقى راسب أبيض أو مبيض الذى يذاب فى أقل كمية ممكنة من المـــاء، ويرشح ويستقبل الراشح فى طبق حرق موزون ويضاف إليه بضع نقـــط مـــن حامض يد كل ويبخر للجفاف على حمام مائى، ويسخن الراسب علـــى درجة حرارة أقل من ٥٠٠ْم ويبرد فى المجفف ويوزن مخلوط بو كل + ص كل. يكرر الحرق حتى ثبات الوزن.

تقدير البوتاسيوم

بعد التخلص من المعادن الثقيلة والحصول على الصوديوم والبوتاسيوم فـــى صـــورة كلـــوريدات (والتخلص من الكبريتات) يضاف ٣ ٥ سم٣ حمض فوق كلودريك ٦٠%، ويبخر المحلول للجفاف ويذاب الراسب فى ماء ســـاخن ويعاد التبخير للجفاف. يسخن الراسب على درجة ٣٥٠ درجة مئوية ويبـــرد ويوزن إذا أريد الحصول على وزن مزيج فوق كلورات الصوديوم والبوتاســـيوم. يضـــاف ١٠ ٢٠ سم٣ من مخلوط خلات الايثايل اللامائية وكحـــول الـــبوتايل العادى المحضر بمزج حجوم متساوية. يسخن المحلول بضـــع دقائق على درجة قريبة من درجة الغليان ويرشح خلال بوتقة جوتس ويغســـل مـــرة أو مرتين ببضعة سنتيمترات من مخلوط الخلات والكحول. يـــذاب الراســـب فـــى أقـــل كمـــية من الماء ويبخر المحلول للجفاف ويعاد الاستخلاص كما سبق. يرشح المحلول ويغسل الراسب عدة مرات باستعمال ١ سم٣ فى كل مرة من مخلوط الخلات والكحول. يجفف الراسب على درجة ١١٠ْم عدة دقائق ثم يسخن على درجة ٣٥٠ْم لمدة ١٥ دقيقة ويبرد ويوزن.

الفوسفور

فى معظم المواد النباتية عدا الحبوب يمكن تقدير الفوسفور فى محلول الرماد الذى استعمل فى تقدير الكالسيوم والمغنسيوم والبوتاسيوم والصوديوم. ويمكـــن تقديره دائما فى محلول الرماد المحتوى على نسبة عالية من أملاح المغنســـيوم. ويلاحظ أنه خلال عمليات حرق الرماد الجاف يتكون جزء من البيروفوســـفات وهذه يلزم تحويلها إلى أرثوفوسفات قبل الترسيب بموليبدات الأمونيوم لتجنب الخطأ فى تقدير الفوسفور. ولا تتحول البيوفوسفات بمجرد

تحميض الرماد بل يلزم غليان المحلول الحمضى بشدة أو تسخينه على حمام مائى لمدة طويلة .

وأفضـــل طـــريقة لتقديـــر الفوسفور هى التى يتخلص فيها من المواد العضـــوية باســـتعمال مخلـــوط مـــن أحماض النيتريك والفوسفوريك وفوق الكلـــوريك ثـــم ترســـيب الفوسفور فى الراشح. وفى معظم الطرق يرسب الفوسفور من محلول حمض على صورة موليبدات الفوسفور.

مشروع تعديل

المواصفات القياسية لطريقة تقدير الزرنيخ فى المنتجات الغذائية

مقدمـــــــــة

تلغـــى هـــذه المواصفة المواصفات القياسية المصرية رقم ١٤٦٠/٧٩ الخاصة بتقدير الزرنيخ فى المعلبات الغذائية وتحل محلها.

١- المجال

تخـــتص هـــذه المواصفة القياسية بطريقة تقدير الزرنيخ فى المنتجات الغذائية.

٢- الطريقة

٢/١- الهضم باستخدام طريقة كلدهل.

٢/١/١- الكواشف.

٢/١/١/١- ماء البرومين (نصف مشبع): يخفف ٧٥ مل من محلول البروم المشبع (Br H_2O) مع حجم مماثل من الماء.

٢/١/١/٢- محلـــول هيبوبـــروميت الصوديوم: نضع ٥٠ مل ٠,٥ع هيدروكســـيد صوديوم فى دورق معيارى سعة ٢٠٠ مل ويخفف إلى العلامة باستخدام محلول البرومين السابق (نصف المشبع).

٢/١/١/٣- محلـــول حمض الكبريتيك موليبدات الأمونيوم: يذاب ٥ جـــم بالضبط من موليبدات الأمونيوم (المائية) فى كمية صغيرة من الماء ويضاف باحتراس وببطء ٤٢,٨ مل حمض كبريتيك ثم التخفيـف إلى ١٠٠ مل باستخدام الماء.

٢/١/١/٤- محاليل أكاسيد الزرنيخوز القياسية:

أ المحلول الأساسى Stock solution ١ مجم / مل: يذاب جم من ثالث أكسيد الزرنيخ AS_2O_3 فى ٢٥ مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم

٢٠% ثـم التخفيف إلى حجم لتر. " يراعى الاحتياطات الخاصة بسمية ثالث أكسيد الزرنيخ ".

ب- محلول وسطى (متوسط التركيز) ١٠ ميكروجرام / مل: يخفف ١٠ مل من المحلول الأساسى Stock Solution إلى لتر.

ج محلـول العمـل: (١ ميكروجرام / مل): يخفف ١٠٠ مل من المحلول الوسطى إلى لتر.

٢/١/١/٥- محلـول كبـريتات الهيدرازين N_2H_4، H_2SO_4 بتركيز ١,٥% فى الماء.

٢/١/١/٦- محلـول يـوديد البوتاسيوم ١٥%: يحفظ فى الظلام ولا يستعمل عندما يتحول إلى اللون الأصفر.

٢/١/١/٧- محلـول كلوريد القصدير Sn، CL_2، $2H_2O$: يذاب ٤٠ جسم فى كلوريد القصدير الخالى من الزرنيخ فى حمض هيدروكلودريك ثم التخفيف إلى ١٠٠ مل باستخدام حمض هيدروكلوريك.

٢/١/١/٨ محلـول حمـض هيدروكلودريك مخفف: يخفف ١٤٤ مل حمض هيدروكلودريك الى ٢٠٠ مل بالماء المقطر.

٢/١/١/٩- محلول خلات الرصاص المائية ١٠% فى الماء

٢/١/١/١٠- معدن الزنك .

٢/١/١/١١- رمـل البحـر: لتنظيف رمل البحر قبل الاستخدام وبين الاختبارات يؤخذ فى أنبوبة زجاجية قطرها الداخلى ٣ ملليمترات لها غطاء مطاط فى دورق شفط.

يثـبت قطعـة مـن المطاط من أعلى لتصل للقاع بسهولة فى أنبوبة امتصـاص الكبرتيد، يضاف بالترتيب مع التقليب والشفط محلول أكواريجيا (نيتـرو هيدروكلوريد أسيد وهو خليط من حمض النيتريك والهيدروكلوريك بنسـبة ١: ٣ ٤ أجـزاء) ثم الماء، فحمض النيتريك، ويضاف ماء لإزالة

آثـــار الحـــامض   يبلل الرمل بمحلول خلات الرصاص ويزال الزائد عن طريق الشفط.

٢/١/١/١٢- داى ايثــيل دى ثيوكـــربامات الفضة: يبرد ويحفظ على درجـــة ٦٠ س أو أقل ٢٠٠ مل من محلول نترات الفضة ٠,١ مولر (٣,٤ جم / ٢٠٠ مل)، ٢٠٠ مل من محلول داى ايثيل داى ثيوكربامات الصوديوم (٤,٥جم / ٢٠٠ مل).

- يضـــاف محلـــول الكـــربامات إلى محلول نترات الفضة ببطء مع التقليب.
- يرشـــح خـــلال قمع بختر، يغسل باستخدام ماء بارد ويجفف تحت ضغط منخفض على درجة حرارة الغرفة.
- يذاب الملح فى البيريدين (درجة الكاشف) مع التقليب.
- يبرد ثم يضاف ماء بارد ببطء حتى تترسب تماما.
- يرشـــح خـــلال قمـــع بوخنـــر ويغسل باستخدام الماء لإزالة كل البيردين.
- تجفـــف البللورات الصفراء الباهتة تحت ضغط منخفض (درجة انصهار هذه البللورات ١٨٥   ١٨٧ س) للحصول على ٨٥ ٩٠% من الكمية.
- قد يلزم فى بعض الأحيان إعادة عملية البلورة للحصول على نقطة الانصهار المطلوبة.
- تخزن البللورات فى زجاجات بنية فى الثلاجة.

٢/١/١/١٣- محلول داى ايثيل دى ثيوكربامات الفضة:

- يـــذاب ٠,٥ جم من الملح المتحصل عليه من الخطوة السابقة فى دورق معيارى سعة ١٠٠ مل فى بيريدية عديم اللون.
- يكمـــل الحجم إلى ١٠٠ ملليلتر باستخدام البيريدين، يخلط ويخزن فى زجاجة داكنة على درجة حرارة الغرفة.

وهذا الكاشف يظل ثابتاً لشهور عديدة على درجة حرارة الغرفة.

١- تستخدم زجاجة ذات فوهة واسعة سعة حوالى ٦٠ مل كمولد.

٢- تنفذ من سداداتها أنبوبة زجاجية قطرها الداخلى ١ سم وطولها من ٦ ٧ سم وطريقة تركيبها كما هو مبين بالشكل. '

٣- يوضــع قليل من الصوف الزجاجى فى الجزء السفلى من الأنبوبة ثــم يضــاف الرمل (٣,٥ ٤) مع ملاحظة أن تكون كميات الــرمل متســاوية فى الأنابيب المختلفة، ويرطب الرمل باستخدام محلول ١٠% من خلات الرصاص.

٤- يــنظف الــرمل عــند الضرورة باستخدام محلول حمض نيتريك متبوعا بالماء ثم الشف الخفيف (لا يتم إزالة الرمل من الأنبوبة) ثم يضاف محلول خلالت الرصاص (إذا حدث جفاف للرمل يجب أن يتم إعادة ترطيبه وتنظيفه كما سبق).

٥- يــتم تركيب الأنبوبة بالجهاز بواسطة سداده مصممة بحيث تدخل بســهولة فى أنبوبة التوصيل ثم بعد ذلك فى رقبة دورق معيارى سعة ٢٥ مل.

٦- تثــبت الأنــبوبة فوق الجهاز بواسطة غطاء مصنفر من البيركس والمثــبت علــيه أنبوبة المصيدة، ويتم تنظيف الجزء العلوى من الجهاز بالماء ثم بحمض النيتريك والنقع لمدة ١/٢ ساعة حتى لا يتغير لون حمض النيتريك، ثم تزال جميع آثار الحامض باستخدام المــاء ثــم يشــطف بالاسيتون وتجفف بواسطة تيار من الهواء باستخدام الشفط وتكرر تنظيف المصايد بين كل تقدير وآخر.

تجهيز العينة

يــتم الهضــم بصــفة عامة بواسطة الهضم الرطب بالأكسدة بحمض النيتريك فى وجود حمض الكبريتيك وذلك حتى يختفى اللون البنى أو الأسود بالعينــية، ثــم يــتم التبريد ويضاف ١/٢ مل من محلول ٧٠% من حامض البيــركلوريك ($HClO_4$) ويسخن حتى يصبح محلول الهضم رائقا (عديم اللون).

يبرد ثم يضاف مرتان ١/٢ مل من حمض البيركلوريك والتسخين فى كل مرة يتم إضافة حمض البيركلوريك حتى يصبح محلول الهضم رائقا. ثم يضاف فى المرحلة النهائية للهضم ماء مع محلول مشبع من أكسالات الأمونيوم مع مراعاة عمل بلانك مع العينات وملاحظة ألا يعطى البلانك أكثر من ١ ميكروجرام زرنيخ.

أ الفاكهة الطازجة (التفاح الكمثرى وما يشابهها)

توزن عينة ممثلة من (١/٢ ٢ كجم) ويتم أخذ القشور والأعناق والأجزاء التى يتوقع تلوثها بمركبات الزرنيخ.

- تؤخذ وتوضع فى دورق كلداهل سعة ١٠٠ أو أكثر لإجراء الهضم للرطب.
- يضاف (٢٥ ٥٠) مل حمض نيتريك ثم يضاف باحتراس ٤٠ مل من حامض الكبريتيك (٢٠ مل فى حالة استخدام جهاز جوتزيت).
- تسخن العينة بحرص وترج دائريا حتى لا تتكون كتل من العينة.
- عندما تتحول العينة إلى اللون البنى أو الأسود يستمر فى إضافة حمض النيتريك حتى هضم جميع المادة العضوية وظهور أبخرة ثالث أكسيد الكبريت (SO_3).
- تترك العينة حتى تبرد ثم يضاف ٧٥ مل ماء، ٢٥ مل محلول مشبع من أكسالات الأمونيوم لتساعد على خروج أبخرة النيتروجين المتبقية من المحلول.
- يسخن لطرد أبخرة النيتروجين وظهور الأبخرة البيضاء مرة أخرى من عنق الدورق (SO_3).
- تبرد العينة ثم تخفف بالماء إلى حجم (٥٠٠ مل أو ١٠٠٠ مل) فى دورق معيارى.

ب- الفاكهة المجففة ومنتجاتها

- تجهز العينة بواسطة الطحن ٤ أو ٥ مرات أو التقطيع لأجزاء ثم ينقل من ٣٥ ٧٠ جم فى دورق هضم كلداهل سعة ٨٠٠ مل.
- يضاف ١٠ ٢٥ مل ماء، ثم (٢٥ ٥٠) مل من حمض النيتريك، ٢٠ مل حمض كبريتيك ويستمر فى الهضم كما سبق فى الفاكهة الطازجة.
- يخفف محلول الهضم إلى ٢٥٠ مل.

ج الفاكهة صغيرة الحجم والخضر المشابهة

-- يوزن (٧٠ ١٤٠ جم) عينة وتهضم كما سبق فى (أ)، (ب).

د بالنسبة للمواد والعينات الأخرى غير المذكورة فى (أ)، (ب)، (ج)

- يوزن من ٥ ٥٠ جم طبقا لنسبة الرطوبة بالعينة وكمية الزرنيخ الملوثة المتوقعة بالعينة.

هـ وفى حالة المنتجات الأخرى مثل الجمبرى والتبغ والزيوت والمنتجات الأخرى تتطلب معاملات خاصة لإتمام أكسدة المواد العضوية لتقدير الزرنيخ بها وتحتاج هذه إلى طرق خاصة.

استخلاص الزرنيخ

قبل عملية التقدير يستخلص الزرنيخ فى حالة وجود مود متداخلة فى التقدير (على سبيل المثال فى حالة وجود البيريدين من التبغ أو فى حالة وجود كميات عالية من الأملاح أو وجود حمض كبريتيك من الهضم) يفصل الزرنيخ ويقدر كثالث كلوريد الزرنيخ ويمكن هضم الجيلاتين مع حمض الكبريتيك ويتم فصل الزرنيخ طبقا للطريقة السابقة.

تقدير الزرنيخ فى الأغذية

أولا: باستخدام أزرق الموليبدينيوم

- ينقل ٢٠ ملليلترا من كل من محاليل الهضم للعينة و البلانك إلى دورق الجهاز (المولد).
- يضاف مع التقليب الدائرى بعد كل إضافة ١٠ ملليلترات ماء مقطر، ٥ ملليلترات حمض هيدروكلوريك مخفف، ٥ ملليلترات محلول يوديد بوتاسيوم، ٤ نقط محلول كلوريد القصديروز.
- يترك المحلول لمدة لا تقل عن ١٥ دقيقة.
- يوضع فى أنبوبة امتصاص الكبريتيد ٤ جرامات من الرمل فوق طبقة رقيقة من الصوف الزجاجى ثم تغطى الأنبوبة بالصوف الزجاجى.
- يوضع فى المصيدة فوق طبقة رقيقة من الصوف الزجاجى كرات زجاجية قطر ٣ مم حتى يتم امتلاء ١/٤ المصيدة ثم يضاف ٣ ملليلترات من محلول هيبوبروميت الصوديوم (٢/١/١/٢).
- يوصل الجهاز فيما عدا المولد.
- يضاف ٤ جرامات من الزنك (١٠/١/١/٢) إلى زجاجة المولد ثم يستكمل توصيل الجهاز بسرعة ويترك لمدة ٣٠ دقيقة حتى يتم التفاعل.
- ترفع المصيدة وتنقل المحتويات إلى دورق معيارى سعة ٢٥ ملليلترات. وتغسل المصيدة ٦ مرات بالماء، باستخدام ٢ ملليلتر ماء فى كل مرة وتنقل المحتويات إلى الدورق المعيارى.
- يضاف مع الرج الدائرى ٠,٥ ملليلتر من محلول حمض الكبريتيك وموليبيدات الأمونيوم (٣/١/١/٢) ١ ملليلتر من محلول كبريتات الهيدرازين NH_2، H_2SO_4 (٥/١/١/٢). ويكمل الحجم إلى ٢٥ ملليلترات، يرج ويترك لمدة ٧٥ دقيقة ويخلط جيدا.
- يقدر الامتصاص باستخدام جهاز اسبكترفوتومتر، جهاز قياس اللون على طول موجى ٨٤٥ نانومترا مقابل البلانك أو يسخن

الـدورق المحـتوى على ٢٥ ملليلترا على درجة حرارة ٥٠م س لمـدة ١٠ دقائـق ثم يبرد الدورق بالماء إلى درجة حرارة الغرفة قبل قراءة الامتصاص.

- يـتم حساب كمية ثالث أكسيد الزرنيخ (أو الزرنيخ) من المنحنى القياسى.

تجهيز المنحنى القياسى

- ينقل إلى دوارق معيارية سعة ٢٥ ملليلترا (صفر، ١، ٢، ٣، ٦ ملليلتـر) مـن المحلـول القياسـى الوسطى المحتوى على ١٠ ميكروجرامات ثالث أكسيد الزرنيخ / ملليلتر.

- يضاف ٣ ملليلترات من محلول هيبوبروميت الصوديوم (٢/١/١/٢) والماء حتى يصل الحجم إلى ١٥ ملليلترا.

- يضاف مع الرج الدائرى ٠,٥ ملليلتر من محلول حمض الكبريتيك وموليبيدات الأمونيوم (٣/١/١/٢)، ١ ملليلتر من محلول كبريتات الهيدرازين (٥/١/١/٢).

- يكمـل الحجـم إلـى ٢٥ ملليلترا. يرج ويترك لمدة ٧٥ دقيقة أو يسـخن علـى درجة ٥٠ س لمدة ١٠ دقائق ثم يخلط جيدا ويقدر الامتصاص على طول موجى ٨٤٥ نانوميترا.

- يرسـم المنحنـى القياسـى من العلاقة بين الامتصاص والتركيز بالميكروجرام لثالث أكسيد الزرنيخ (أو الزرنيخ).

ثانيا: تقدير الزرنيخ باستخدام طريقة داى ايثيل داى ثيوكرباماتت الفضة

- تنقل أحجام متساوية (عادة ٢ ٥ ملليلترات) من كل من محاليل الهضم للعينة والبلانك إلى زجاجة المولد.

- يضاف الماء ليصل الحجم إلى ٣٥ مل ثم يضاف الكواشف الآتية مـع التقليل الدائرى: ٥ مل من محلول حمض الهيدروكلوريك، ٢ مـل مـن محلـول يوديد البوتاسيوم، ٨ نقط من محلول كلوريد

القصديروز ويترك الجهاز ١٥ دقيقة أو أكثر لتوليد وتصاعد غاز الأرزين ($AS\ H_3$) كما فى طريقة أزرق الموليبدينيوم فيما عدا يضاف ٤ مل من محلول داى ايثيل داى ثيوكرباماات الفضة (٢/٢/١/١/١٣) إلى المصيدة.

- وبعد مرور فترة توليد الغاز ينقل المحلول بعد فك المصيدة إلى خلية جهاز الاسبكتروفوتوميتر ويقاس الامتصاص على طول موجى ٥٢٢ نانوميترا ويقدر الزرنيخ بالعينة من المنحنى القياسى.

ب- تجهيز المنحنى القياسى

- ينقل صفر ، ١، ٣، ٦، ١٠، ١٥ مل من المحلول القياسى الذى يحتوى على ١ ميكروجرام ثالث أكسيد الزرنيخ / مل (٢/١/١/٤ جـ) إلى زجاجة جهاز توليد الغاز ثم يضاف ماء ليصل الحجم إلى ٣٥ مل، وتكمل التجربة كما فى حالة تقدير الزرنيخ فى العينة، ثم يقاس اللون المتكون على طول موجى ٥٢٢ نانوميتراً ويعمل رسم بيانى يوضح العلاقة بين الامتصاص وتركيز الزرنيخ أو ثالث أكسيد الزرنيخ للحصول على المنحنى القياسى.

ثالثا: تقدير الزرنيخ باستخدام طريقة جوتزيت

فى حالة عدم توافر بعض الكيماويات (مثل البرومين هيبوبروميد الصوديوم داى ايثيل داى ثيوكربمات الفضة) يستخدم طريقة جوتزيت كما يلى:

الكواشف

١- حمض كبريتيك مركز .
٢- حمض نيتريك مركز .
٣- أكسالات نشادر .
٤- محلول هيدركسيد الصوديوم ٢٥%.
٥- حمض هيدروكلوريك مركز .
٦- محلول يوديد بوتاسيوم ١٥% فى زجاجة بنية.

٧- كلوريد القصديروز ٤٠% فى حمض الهيدروكلوريك.
٨- خلات رصاص ١٠%.
٩- زنك معدنى.
١٠- كلوريد أوبروميد الزئبقيك.
١١- رمل البحر.

تجهيز العينة

- تؤخذ العينة (حسب نوعها كما سبق) ثم تجهيز العينة بواسطة الهضم الرطب باستخدام حامض الكبريتيك وحمض النيتريك الى تمام الهضم، وتصاعد أبخرة غاز ثالث أكسيد الكبريت البيضاء دليل انتهاء الهضم. ثم يضاف بعض الماء وأكسالات النشادر مع التسخين لطرد أبخرة حمض النيتريك من العينة المهضومة.

الطريقة

- يؤخذ مقدار معلوم " ٣٠ مل " من العينة المهضومة وتوضع فى دورق جهاز جوتزيت ثم يعادل الحمض الموجود بالعينة (الكبريتيك) بمحلول ٢٥% هيدروكسيد الصوديوم.
- يضاف ٥ مل من حمض الهيدروكلوريك المركز ثم يضاف ٥ مل من محلول يوديد البوتاسيوم (أو ١ جم).
- يضاف بضع نقط (٤ نقط) من محلول كلوريد القصديروز ٤٠%.
- يضاف ٥ جم من معدن الزنك حيث يتولد غاز الأرزين مباشرة وكذلك تغطى الزجاجة بسرعة بأنبوبة الجهاز التى تحتوى بداخلها على قطنة مبللة بمحلول خلات الرصاص وسبق تجفيفها وذلك لامتصاص غاز كبريتيد الهيدروجين (H_2S) إذا تصاعد وتنتهى الأنبوبة بسدادة بفتحتها ورقة كلوريد أو بروميد الزئبقيك ومثبتة بين غطائين حيث يتكون لون أصفر من غاز الأرزين مع الورقة.

- يترك الجهاز لمدة حوالى ١/٢ ساعة على الأقل ثم تقارن البقع المتكونة على الورقة مع البقع المتكونة من المحاليل القياسية (السابقة التجهيز) وبذلك يمكن معرفة كمية الزرنيخ أو ثالث أكسيد الزرنيخ في العينة.

• تقدير الزرنيخ في اللحوم والدواجن باستخدام طريقة أزرق الموليبدينيوم.

الأساس

يتم ترميد العينة في وجود نترات الماغنسيوم على درجة حرارة ٦٠٠ س، يذاب الرماد بإضافة حمض هيدروكلوريك مخفف ويضاف الزنك لتوليد غاز الأرزين $AS\ H_3$ الذى يستقبل بواسطة محلول اليود في خلية.

- يتكون مركب معقد أزرق اللون ويتم قياس اللون المتكون على طول موجى ٨٤٠ نانومترا في نفس الخلية (المصدر الرئيسى للخطأ هو التلوث بالزرنيخ).

الكواشف

يراعى أن تكون جميع الأدوات خالية من اثار الصابون والمنظفات حيث إنها مصدر للتلوث بالزرنيخ وفى حالة استخدام المنظفات أو الصابون يتم الغسيل بواسطة محلول الواريجيا قبل الاستخدام، ويتم غسل جميع الوصلات المستخدمة باستخدام الماء المقطر من الداخل والخارج مع الشطف ثلاث مرات على الأقل.

- تشطف الأقماع مباشرة بواسطة الملىء للنهاية مع وضع القمع على غطاء مطاط ذي فتحة واحدة مركب على دورق تفريغ الدورق بسحب الماء خلال التفريغ.

- مذيب الأنسجة: كلوروفورم (أو بنزين) اسيتون كحول مطلق بنسبة ١: ١: ٢ على الترتيب.

- حمض هيدروكلوريك مخفف (تخلط ١٧٥ مل حمض هيدروكلوريك + ٢٨٠ مل ماء).

- محلول يوديد البوتاسيوم ١٥%.

- محلول كلوريد القصديروز ٤٠% فى حمض هيدروكلوريك مخفف يخزن فى وجود قصدير معدنى.

- زنك معدنى على صورة حبيبات حوالى ٠,٥ جم للحبة.

- محلول خلات الرصاص: يجهز محلول مائى مشبع من خلات الرصاص المائية فى زجاجة دليل تنقيط. يحضر حديثا فى حالة وجود عكارة بالمحلول.

- محاليل اليود:

أ محلول اليود ٠,٢ ع:

يذاب ٨ جم يوديد بوتاسيوم، ٢,٥٤ جم يود فى كمية قليلة من الماء ثم يخفف إلى لتر بالماء يخزن فى زجاجة داكنة اللون.

ب- محلول يود ٠,٠٠١ ع:

يخفف ٥ مل من محلول اليود ٠,٠٢ ع إلى ١٠٠ مل بالماء ويجهز طازجا يوميا.

- محلول موليبدات الأمونيوم: يذاب ٧ جم من موليبدات الأمونيوم فى خليط دافئ من ٧٠ مل حمض كبريتيك، ٣٠٠ مل ماء يبرد ثم يخفف إلى ٥٠٠ مل بالماء.

- محلول كبريتات الهدرازين: يذاب ٠,٣ جم من كبريتات الهيدرازين فى الماء ويخفف إلى ٢٠٠ مل.

- محاليل أكاسيد الزرنيخوز القياسية:

أ   المحلول الأساسى Stock Solution ١ مجم زرنيخ / مل

يـذاب ١٣٢,٠ جم ثالث أكسيد الزرنيخ فى ٥٠ مل من الماء المحتوى علـى ٠,٧ مـل من هيدروكسيد الصوديوم ٥٠%. يعادل باستخدام محلول حمض الكبريتيك ٥٠% ثم يكمل الحجم إلى ١٠٠ مل.

محاليل العمل:

يخفف ١ مل من المحلول الأساسى فى دوارق معيارية أحجام ١٠٠مل ٢٠٠ مـل، ٥٠٠ مـل باستخدام المـاء لتعطى محاليل تركيز ١٠، ٥، ٢ ميكروجرام زرنيخ / ملليلتر على التوالى.

- المحاليل القياسية لحمض الأرسانيليك $C_6 H_8 As NO_3$

- المحلـول الأساسى ١ ملجم / مل: يذاب ٠,٢٨٩٧ جم من حمض الأرسـانيليك و التخفـيف بالماء المقطر إلى ١٠٠ مل. (يراعى درجة النقاوة المذكورة على بطاقة العبوة).

- محاليل العمل: تحضر محاليل مخففة كما سبق فى تحضير محاليل ثالث أكسيد الزرنيخ.

الأجهزة المطلوبة

١- حامـل لخلايا جهاز الأسبكتروفوتوميتر : حامل معدنى قادر على حمل ٨ خلايا حجم ١٩ × ١٠٥ مم داخل كأس سعة ٦٠٠ مل.

٢- جهـاز تقطيـر الزرنيخ: يتكون من دورق سعة ١٢٥ مل وقمع بمصيدة وأنبوبة منحنية متصلة بها.

٣- قطن ماص.

تجهيز العينة

" نتأكد من خلو الكاشف المعملية من الزرنيخ "

- يتم إجراء تجربة ضابط أو أكثر باستخدام الكاشف و عينات قياسية مع العينات المطلوبة تحليلها.

- فــى حالة العينات الكبيرة (١٠٠ جم أو أكثر) تقوم جيدا مرتين أو أكثر فيما عدا الكبد يكتفى بالفرم البسيط مرة واحدة.

- توزن كمية مناسبة من العينة فى بوتقة سعة ٥٠ مل مع إضافة ٤ جم من مادة نترات الماغنسيوم المائية $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ لكل ١٠ جم من العينة.

- يــتم التقلــيب باستخدام ملعقة من الصلب الذى لا يصدأ أو مرود زجاجى حتى تذوب تماما نترات الماغنسيوم.

- يفرد المخلوط فى طبقات زوجية على جوانب البوتقة.

- أمــا بالنسبة للعينات الصغيرة (أقل من ١٠٠ جم) توزن كمية معلومة في مجنس أو خلاط ويضاف ٤ جم نترات ماغنسيوم مائية / ١٠ جــم من العينة، وكمية كافية من مذيب الأنسجة (للمساعدة فى عملية الخلط).

- يوزن ويخلط لمدة دقيقة.

تحذير

يراعــى اســتخدام خــلاط مقــاوم للانفجار فى استخدام خليط بنزين واسيتون وكحول ومزود بصمام أمان.

- يوزن جزء من الخليط يحتوى على كمية مناسبة من العينة المذابة فــى بــوتقة ٥٠ مل ثم يبخر المذيب الزائد باحتراس ويبخر الماء على حمام بخار أو فى فرن على درجة حرارة ٩٥°م.

التقدير

- توضــع الــبوتقة فى فرن حرق بارد وترفع الحرارة تدريجيا إلى ٦٠٠°س لحــرق والــتخلص من كل المادة العضوية بالعينة وتبرد البوتقة.

- يرطب الرماد بقليل من الماء، ٣ مل من حامض النيتريك (١: ٤) وتوضـــع بالفرن على درجة ١٠٠س أولا لتبخير الحامض والماء وترتفع الحرارة تدريجيا إلى ٦٠٠س وتثبت لمدة ساعة.

- وفـــى حالـــة عدم الحصول على الرماد بلون أبيض تكرر خطوة إضافة حمض النيتريك و التبخير و الحرق بالفرن.

- تـــنقل البوتقة لتبرد ويرطب الرماد بقليل من الماء ويذاب فى ١٠ مـــل حمض هيدروكلوريك مخفف تنقل بواسطة محقن زجاجى بدون إبرة.

- تنقل كميا إلى دورق جهاز التقطير سعة ١٢٥ مل باستخدام دفعتين مـــن حمـــض هيدروكلوريك مخفف كل دفعة ١٠ مل. مع غسل جوانب الدورق بدفعة رابعة من حمض هيدروكلوريك مخفف (١٠ مل). (يراعى استخدام حجم ثابت من المحاليل فى دورق الجهاز حـــيث إن الفـــراغ القمـــى فـــوق السائل يؤثر على كفاءة تقطير الهيدروجين وغاز الأرزين)

- يبرد الدورق إلى حرارة الغرفة ويضاف ٢ مل من محلول ١٥% يوديد البوتاسيوم مع التقليب الدائرى.

- يضـــاف ١ مل كلوريد القصديروز ٤٠% ويترك لمدة (١٥-٣٠ دقيقة) وينقل ٧ مل ٠,٠٠١ ع من محلول اليود فى خلية مع وضع قطعة قطن صغيرة مبللة بخلات الرصاص فى قمة القمع.

- تـــبلل الوصلات الزجاجية بالماء (لسهولة فكها) يوصل الدورق بالمكثف المائى وتلحق به أنبوبة مثبت بها قمع.

- يملأ كأس سعة ٦٠٠ مل بالثلج المجروش ويكمل بخليط من الثلج والماء حتى ٢/٣ ارتفاعه.

- تـــرطب الوصـــلات بالماء ثم يضاف ١٢,٥ جم زنك إلى الدورق ويوصـــل القمع بالدورق وتوضع أنبوبة التوصيل بالخلية بسرعة كلمـــا أمكـــن. ويتـــرك التقطير بدون حرارة لمدة ساعة ثم تزال

الأنبوبة من الخلية بحرص وببطء ويضاف ٠,٥ ملليلتر من موليبدات الأمونيوم وتخلط جيدا ثم يضاف ٠,٣ مل من محلول كبريتات الهيدرازين N_2H_4) . (H_2SO_4 وتمزج وتخلط بحرص.

- توضع الخلية والماسك الخاص بها فى حمام مائى معتدل الغليان أو على حمام بخار متوسط الغليان (غير قوى) لمدة ١٠ دقائق ثم ترفع من الحمام وتجفف باستخدام نسيج ناعم وتوضع فى مكان بارد مظلم لمدة ساعة للتأكد أن العينات وصلت لنفس الحرارة وتكوين اللون.
- يتم قراءة العينات على جهاز الاسبكتروفوتوميتر السابق معيارته أو جهاز لونى على طول موجى ٨٤٠ نانوميتراً مع استخدام الماء الخالى من ثانى أكسيد الكربون لضبط صفر الجهاز يتم إجراء التصحيح المناسب على ضوء نتائج البلانك.

تجهيز المنحنى القياسى

- تحضر العينات القياسية من ١٠ جم من الكبد الخالى من الزرنيخ + ٤ جم من نترات الماغنسيوم المائية وكميات مناسبة من محلول العمل لحمض الارسانيليك ليعطى كميات محددة من الزرنيخ ٢، ٤ ، ٦، ٨، ١٠ ميكروجرامات من الزرنيخ.
- يكرر كل تحليل ٣ مرات أو أكثر ويؤخذ متوسط كل تركيز ومنه يرسم المنحنى القياسى.

رابعا: تقدير الزرنيخ فى الأغذية باستخدام جهاز امتصاص الطيف الذرى (طريقة الهيدرين)

أساس الطريقة

تتفاعل مركبات الزرنيخ فى وسط حمضى مع بوروهيدريد الصوديوم مكونة غاز هيدريدزرنيخ الذى يتم حمله بواسطة غاز النيتروجين إلى موقد جهاز الامتصاص الذى يمتص الطيف الذرى الزرنيخ عند موجة طولها ١٩٣,٧ نانوميترا.

- جهاز امتصاص الطيف الذرى: مزود بموقد يعمل بغازات الهيدروجين والنيتروجين والهواء مع إمكانية التحكم فى اتجاه وضغط الغازات ويتم ضبط طول موجة الامتصاص ١٩٣,٧ نانوميترا (حديثا يزود جهاز الامتصاص الذرى بوحدة تركب عليه تسمى Mercury hydride system تشمل أنبوبة كوارتز، ووحدة التفاعل والغازات اللازمة لتشغيلها).
- محقن سعة ١٠ مل مزود بابرة مناسبة.
- وحدة التفاعل: وتتكون من دورق زجاجى مزود بأنابيب بلاستيك الفتيل والوصلات اللازمة لنقل غاز الهيدرين إلى موقد جهاز الطيف الذرى.
- دوارق عيارية سعة ١٠٠، ١٠٠٠ مل.
- كأس زجاجى.
- ماصة مدرجة ١، ١٠ مل.

المحاليل والكواشف

١- فوق أكسيد الهيدروجين يد٢ أ٢ ٣٠%.

٢- حمض كبريتيك مركز.

٣- حمض نيتريك مركز.

٤- هيدروكسيد صوديوم ١٠%.

٥- غاز نيتروجين نقى (أسطوانة غاز بمنظم للضغط).

٦- غاز هيدروجين نقى (أسطوانة غاز منظم للضغط).

٧- محلول يوديد الصوديوم. يذاب ١٠ جم يوديد صوديوم فى ١٠٠ مل ماء مقطر.

٨- محلول بور هيدريد الصوديوم. يذاب ٤ جم بوروهيدريد الصوديوم فى ١٠٠ مل محلول هيدروكسيد الصوديوم ١٠%.

تقدير الزرنيخ باستخدام جهاز امتصاص الطيف الذرى (طريقة أخرى)

١ – تجهيز العينات

- الهضـــم الـــرطب (وهذه الطريقة تفضل لجميع المعادن الثقيلة): يـــوزن (٢ ٥) جرامات من العينة فى أنبوبة كلداهل ويضاف حمض النيتريك النقى ١٠ مل + ١٠ مل من حمض كبريتيك نقى. ويسخن ببطء حتى يتم الهضم ويصير لون المحلـــول رائقاً وينقل إلى حجم معين للقياس ٥٠ مل.

٢ – الهضم بواسطة الميكروويف

الجهاز به عدد ٦ كبسولات لوزن العينات ولكل مادة غذائية برنامج خاص للهضم سواء كانت سائلة أم صلبة.

- يسوزن (١/٢ ١ جــرام) مــن العينة ويضاف (٢ ٥) مل حمـــض نيتريك مركز نقى، ٢ مل هيدروجين بيروكسيد (H_2O_2) ثـــم تغلـــق الكباسيل وتوضع فى الميكروويف بعد ضبط البرنامج الخـــاص بالعينة وبعد ٢٠ دقيقة يتم هضم العينة ثم يكمل إلى ٢٥ مل أو ٥٠ مل ويقرأ على جهاز الامتصاص الذرى.

تحضير العينة

١ – صـــوديوم بوروهيدرين: يذاب ٢ جم من $NaB\ H_4$ + ٣ جدرام صوديوم هيدروكسيد فى ماء مقطر إلى ٥٠٠ مل.

٢ – كلـــوريد القصديروز: يذاب ٥٠ جرام من كلوريد القصديروز + ١٠٠ مل حمض هيدروكلوريك نقى ويسخن حتى الذوبان ويترك ليبرد ويكمل إلى ٥٠٠ مل ماء.

٣ – حمـــض هيدروكلوريك مركز: يحضر حمض الهيدروكلوريك ٣ مولر فى ٥٠٠ مل ماء.

٤ – يـــوديد البوتاســـيوم: يذاب ١٠ جرامات من يوديد البوتاسيوم فى الماء المقطر ١٠٠ مل.

ملحـــوظة: يضاف يوديد بوتاسيوم على بلانك وعلى المحاليل القياسية وعلى العينات بنسبة ثابتة (٢ مل).

٥- يحضـــر محاليل قياسية من الزرنيخ عالية التركيز (١ مل = ١٠ ميكروجرام / لتر) ثم يحضر محاليل مخففة ٥، ١٠، ٢٠ .

طريقة التقدير

١- باستخدام نظام الهيدريد:

يــتم ضـــبط الجهاز على عنصر الزرنيخ وذلك بفتح غاز الأرجون الاستلين الهواء طبقا للتعليمات الخاصة بالجهاز.

- يضـــبط الطول الموجى ١٩٣,٧ نانوميتراً وتوصل الثلاث أنابيب الـــرفيعة بالجهـــاز واحدة للزجاجة الخاصة ببوروهيد الصوديوم والثانـــية لـــزجاجة حمـــض الهيدروكلوريك والثالثة للماء المقطر أو البلانك أو العينة.

- بتشـــغيل جميع المفاتيح يبدأ مرور الغاز ويعمل على بدء التفاعل مع بوروهيدريد الصوديوم وحمض الهيدروكلوريك وخروج غاز الهيدروجـــين فـــى وحـــدة التفاعل، ويتكون هيدريد الزرنيخ الذى يحمـــل بواســـطة غاز الأرجون إلى جهاز الامتصاص الذرى فى أنبوبة الكوارتز، ويقرأ أولا حساسية الجهاز بأقل محلول قياس ثم أكبر تركيز محلول قياس ثم يقرأ البلانك ثم محاليل قياسية مخففة ٥، ١٠، ١٥ ثم قراءة العينات ويحسب تركيز العينات.

$$\text{التركيز} = \frac{\text{نسبة التخفيف} \times \text{القراءة المأخوذة من الجهاز}}{\text{وزن العينة}}$$

٢- باستخدام نظام الجرافيت

- يــتم هضـــم العينة كما سبق ذكره وتكتمل العينة إلى حجم معين للقياس.

- فــى هــذا البــرنامج (الجــرافيت) جزء خاص يسمى Auto Samples بــه قرص دائرى به ٤٢ فتحة لوضع أنابيب صغيرة للعيــنات، كذلك مكان خاص لوضع المحلول القياسى بتركيز ٥٠ ميكروجــرام / لتر، وكذلك مكان لوضع محلول لتحسين حساسية الجهاز ومنظم، وهنا يستخدم النيكل بتركيز عال.
- ثــم يضبط الجهاز على البرنامج الخاص بالزرنيخ حسب تعليمات الجهــاز بطول موجى ١٩٣,٧ نانوميتراً ثم تقرأ الماء المقطر أولا ثــم بلانك ثم المحاليل القياسية التى يقوم الجهاز بتحضيرها حسب الطلــب ١٠، ٢٠، ٣٠ جــزءاً بالملــيون بحيث لا تزيد على ٥٠ ميكروجــرامات / لتــر وفى كل مرة لا بد من التأكد أن العلاقة خطــية بــين التركيــز والامتصاص. ثم يحسب تركيز العينة من المعادلة السابقة.

$$\text{التركيز} = \frac{\text{نسبة التخفيف} \times \text{القراءة المأخوذة من الجهاز}}{\text{وزن العينة}}$$

الصبغات Pigments والمواد الملونة Colournants

يعتبر اللون من أهم العوامل المميزة والمحددة لجودة الأغذية ومنتجاتها، فهو يعطى الإحساس الأولى والمبدئى لجودة ومدى قبول المادة الغذائية، حيث أنه يؤثر على مظهرها العام، ولذا فمن المهم لدى المحلل الكيميائى فى مجال التصنيع الغذائى أن يقوم بتحليل المواد الملونة سواء الطبيعية أو الصناعية فى المادة الغذائية ومدى تأثير المعاملات التكنولوجية عليها.

وتوجد خمسة أقسام رئيسية من المواد الملونة الطبيعية فى الأغذية، حيث يوجد أربع صبغات منها فى المملكة النباتية سواء المواد الملونة القابلة للذوبان فى الدهون Lipid Soluble pigments مثل الكلورفيللات Chlorophylls والكاروتينويدات Crotenoids أو المواد الملونة القابلة للذوبان فى الماء Water Soluble pigments مثل الانثوسيانينى Anthocyanins والبيتالنيز Betalains، أما الأنسجة الحيوانية فهى تحتوى على صبغة اللحم والتى ترجع إلى مركبات الهيم مع البروتين heme protein مثل الميوجلوبين Myoglobin، كما أنه فى بعض أنسجة الأسماك مثل السالمون Salmon وسمك Trout والقشريات Crustaceans فإنه تزداد نسبة الصبغات الحمراء البرتقالية Orange red pigment نظرا لوجود صبغات الكاروتينويدات والتى تصل إلى أنسجة الأسماك نتيجة التغذية النباتية.

وتجدر الإشارة إلى أن الصبغات بصفة عامة حساسة إلى الأكسوجين، الحرارة، الضوء، أيونات المعادن، العوامل المؤكسدة أو المساعدة لتفاعلات الأكسدة والاختزال، ولهذا فإنه يجب الأخذ بعين الاعتبار تقليل وتلافى أى تأثير من هذه العوامل على المواد الملونة عند إجراء عمليات الاستخلاص أو تداول ونقل وتخزين الأغذية، كما تتأثر الصبغات ويفقد جزء منها نتيجة النشاط الإنزيمى ولذا يجب العمل على تثبيط الإنزيمات خاصة المؤكسدة منها وتحويلها إلى الصورة غير النشطة حتى لا تؤدى إلى هدم الصبغات.

الكلوروفيل Chlorophyll

يعتبـــر الكلوروفيل الصبغة الرئيسية التي تمتص الأشعة الضوئية على طـــول موجـــي ٤٣٠ – ٦٨٠ نانوميتـــراً والكلوروفيللات هي الصبغات الخضـــراء المسئولة عن اللون الأخضر للخضراوات وبعض الفواكه، حيث يـــتواجد الكلورفـــيل في مرحلة النضج ويختفي تدريجيا مع التقدم في نضج الـــثمار وظهـــور الصـــبغات الصفراء والحمراء. ومن المعروف أن عملية التمثـــيل الضوئي لا تتم إلا في وجود الكلورفيل ووجد من الأبحاث أن هذه العملـــية يلـــزم لهـــا طاقة ضوئية تمتص بواسطة صبغة الكلوروفيل ويمكن تلخيص هذه العملية في أبسط صورها كالاتي:

$$6\,CO_2 + 6\,H_2O \xrightarrow[\text{energy}]{\text{chlorophyll}} C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2$$

ولقـــد أثبتت الأبحاث أن وجود الكلورفيل في النباتات الخضراء يكون مصـــحوبا بنوعين من الصبغات الملونة بألوان صفراء $C_{40}H_{56}$ carotene أو حمراء $C_{40}H_{56}O_2$ Xanthophyll أو ما بينهما.

ومـــنذ عـــام ١٨٣٩ أجـــريت عدة أبحاث لمعرفة التركيب الكيماوى للكلوروفيل بدأها الباحث Berzelies ثم بذل العالم Willstatter جهدا كبيرا في التعرف على الرمز البنائي لصبغة الكلوروفيل. ويمكن فصل الكلوروفيل فـــي الكلوربلاستيدات Chloroplastides والتي تتكون من وحدات صغيرة تســـمى جـــرانا Grana تحـــتوى علـــى طبقات تحصر فيما بينها جزئيات الكلوروفـــيل، وترتبط الكلورفيللات بالبروتينات والليبوبروتينات في الأنسجة النباتية مما يجعل الكلوروفيل محميا من تأثير الحموضة.

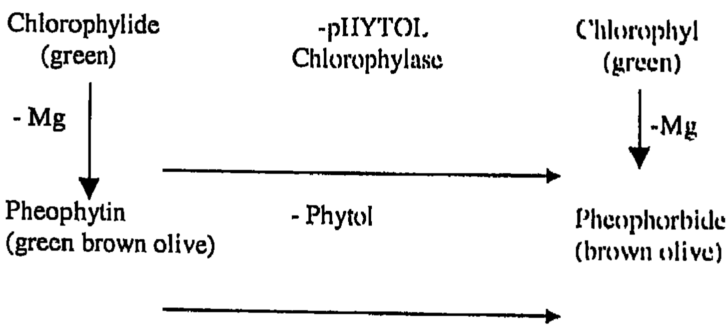
وهـــناك نوعان من الكلورفيللات هما كلوروفيل أ Chlorophyll a وكلورفـــيل ب Chlorophyll b والاختلاف بينهما بسيط يتمثل في وجود مجمـــوعة ميثـــيل CH_3 على ذرة الكربون رقم ٣ في الصورة أ بينما توجد مجموعة الدهيد CHO في الصورة ب.

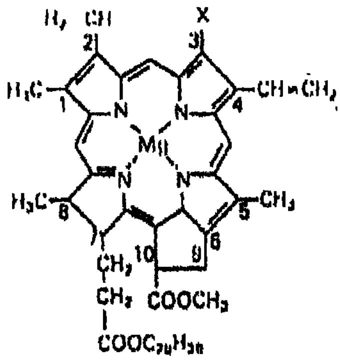
والكلورفيللات تعتبر ضمن صبغات التترابيرول tetrapyrrole تكون فيها حلقة البوفيرين فى الصورة داى هيدرو Dihydro كما أن الذرة المعدنية التى توجد فى مركز الحركة هى الماغنسيوم Mg^{++} ويمكن إزالة ذرة الماغنسيوم بسهولة بالتسخين ويتكون مشتقات الفيوفنين أ، ب Pheophtin a,b ويتميز الفيوفتين بلون زيتونى بنى.

ويعتبر الكلورفيل ثابتاً فى الوسط القلوى وعلى ذلك فإن الطبخ فى الماء أو البخار يؤثر على صبغة الكلوروفيل ويسبب إزالة ذرة الماغنسيوم، كما أن إنزيم الكلورفيللييز Chloro phyllase يساعد على كسر حلقة الفيتول phytol وتحليلها وتتكون مشتقات الميثيل كلوروفيللدات methyl chlorophylides كما يمكن أيضا أن تحدث تفاعلات أكسدة سواء إنزيمية أو ضوئية لوحدات التترابيرول وبالتالى يختفى اللون الأخضر للكلوروفيل.

وتجدر الإشارة أن المركبات المتحصل عليها بعد إزالة ذرة الماغنسيوم مثل الفيتوفتين أو بعد إزالة الفيتول مثل الكلوروفيللدات يمكن أن تتأكسد وتنتج الفيتوفوربيدات pheophorbides.

ويمكن تلخيص تفاعلات هدم الكلوروفيللات فى الشكل التالى:





Structure of chlorophylls a and b. a: X = -CH3; b: X = -CHO.

شكل (٢٦): تركيب الكلوروفيل أ ، ب

بعض الخواص العامة للكلوروفيل Propertries of chlorophyll

١- الكلوروفــيل له لون مميز يمكن القول إنه أسود مزرق bluish black مــع لمعة معدنية قوية وفى حالة جفافه يعطى لوناً أخضر Greenish.

٢- وجــد من الأبحاث أن الكلوروفيل ليست له نقطة انصهار محددة وهى تتراوح ما بين ٩٣ إلى ١٠٦م.

٣- يــذوب الكلوروفــيل فــى الكحول النقى مع إعطاء لون أخضر مزرق.

٤- صبغة الكلورفيل ليست لها خواص حامضية أو قاعدية.

٥- أثبتت الدراسات التى قام بها كل من Willstatter and Schertz أن الأحمــاض تحول لون الكلوروفيل إلى اللون البنى الزيتونى Olive brown.

٦- ثــبت مــن الدراسات ولتجارب أن أيدروجين الحامض يحل محل ذرة الماغنسيوم فى جزىء الكلوروفيل وبالتالى يتغير اللون.

٧- صبغة الكلوروفيل كما سبق إيضاحه تتكون من خليط من مركبين هــى كلورفيل أ، ب وقد اقترح فصلهما عن طريق مدى اختلاف ذوبان كل منهما فى الكحول.

٨- وجد أن الكلوروفيل أ يمكن استخلاصه فى طبقة مذيب البتروليوم اثيــر، بيــنما الكلوروفــيل ب يمــن استخلاصه فى طبقة كحول الميثيل.

٩- أثبــتت الدراســات أن الكلوروفــيل أ يعطى لوناً أحمر دموياً فى الضوء المنعكس ويتبلور فى طبقة أبرية معطيا لوناً أزرق معدنياً قــوياً. أمــا بالنسبة للكلوروفيل ب فقد أثبتت الدراسات أنه يعطى لــوناً أصــفر فــى الضوء المنبعث ولوناً بنياً محمراً فى الضوء المنعكس.

١٠- يـــتحلل الكلوروفـــيل بواســـطة إنـــزيم الكلوروفيلليـــز Chlorophyllase الموجود فى الأوراق الخضراء وينفرد كحول الفيتل.

١١- الفرق بين نوعى الكلوروفيل يتضح فى أن الكلوروفيل أ يحتوى علـــى مجموعة ميثيل وفى الكلوروفيل ب يحتوى على مجموعة الدهـــيد، وبالتالى فإن الكلوروفيل ب يقل عن الكلوروفيل أ بذرتي أيدروجين ويزيد عنه بذرة أكسوجين.

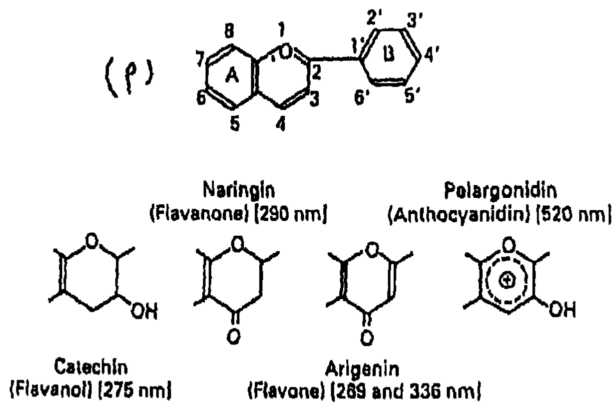
١٢- كـــلا نوعى الكلوروفيل يحتوى على أربع حلقات بيرول متصلة مع بعضها لتكوين البورفورين.

تحليل الكلوروفيلليلات

لقـــد تطورت طرق تحليل الكلوروفيل فى الأغذية ومنتجاتها المصنعة ســـواء بالتجمـــيد التعلـــيب بعـــد السلق. كما أوضح ذلك Sthwartz وآخـــرون عام ١٩٨١، ولقد قام Minguez واخرون، الباحثان Canjura & Schwartz، العـــالم Lopez فـــى الفترة من ١٩٩٠ إلى ١٩٩٣ بتقدير الكلوروفـــيل ومشتقاته فى بعض الأغذية الطازجة والمعاملة وذلك باستخدام جهاز HPLC.

ولقـــد قـــام Schwartz & Lorenzo عام ١٩٩٠ ب تجميع طرق تحليل الكلوروفيل وتصنيعها.

الفلافونويدات ومشتقاتها Flavonoids and their derivatives



شكل (٢٧): التركيب البنائي للوحدة الاساسية للفلافونويدات "الفلافيليم" والمجاميع الفعالة لبعض الفلافونات .

التركيب الأساسى لهذه المركبات يمكن إيضاحه فى الشكل رقم (٢٧). والفلافونويدات مسئولة عن اللون الأحمر أو البنفسجى red or violet colour للانثوسيانين anthocyanine واللون الأصفر yellow colour للفلافونويدت Flavonoids.

والتركيب الأساسى لهذه الصبغات هو مركب ٢- فينيل بنزوبير يليم 2-phenyl benzopyrlium أو ما يسمى بـ فلافيليم Flavylium والذى يمتص الضوء المرئى مظهرا اللون الأصفر ثم البرتقالى فالأحمر وأخيرا اللون البنفسجيى عند أقصى امتصاص.

وقد أمكن التعرف على ستة مشتقات ذات أهمية فى الأغذية ومنتجاتها. وتجدر الإشارة إلى أنه بالإضافة لوجود مجاميع هيدروكسيل OH على ذرات الكربون رقم ٣، ٥، ٧ كان هناك اختلاف فى إحلال لمجاميع الهيدروكسي أو الميثوكسيل على ذرات ٣، ٤، ٥ في الحلقة B لمركب Flavylium وتبعا لهذا الاختلاف في التركيب تظهر الألوان المحددة لكل مركب (أحمر أو أزرق أو بنفسجى).

وهذه المركبات تشتق من الانثوسيانين كما أن مركبات الانثوسيانين ترتبط بجزيء أو أكثر من السكريات، وعند إزالة جزيء السكرى بواسطة التحلل المائى أو نتيجة تأثير حموضة الوسط فإن الانثوسيانين يتحول الى انثوسيانيدين Anthocyanidins.

بعض الفلافونديدات مثل الليكو سيانيدين leucocyanidin تكون عديمة اللون. وفى حالة الأكسدة بالحرارة في وسط حامض فإن هذه المركبات عديمة اللون تتحول إلى الانثوسيانيدين معطية اللون البنفسجى أو الأحمر، كما يحدث ذلك فى أصناف التفاح والكمثرى والكرنب والبقوليات وتسمى هذه الفلافوفويدات بمولدات الانثوسيانيدين proanthocyanidins.

وتعتبر صبغة الانثوسيانين من أكثر الصبغات انتشارا فى المملكة النباتية، وهناك بعض الخواص العامة لصبغة الانثوسيانين نوجزها فيما يلى:

١- الانثوسيانين مواد متبلورة تذوب فى الماء والحمض والقلوى ولمذيبات الهيدروكسيلية بينما لا تذوب فى مذيبات الدهون مثل الايثير والبنزين.

٢- تتلف صبغات الأنثوسيانين بالحرارة المرتفعة ولمدة طويلة كما فى عمليات تصنيع وحفظ عصائر الخضراوات والفاكهة فى العلب الصفيح Canning.

٣- تتأكسد فى وجود الهواء وتتحول إلى لون غير مرغوب والذى يكون عادة لونا بنيا.

٤- تعمـــل الأنثوســـيانين مثل الدلائل فهى تبدو حمراء أو وردية فى المحالـــيل الحامضـــية أو زرقـــاء أو بنفسجية فى الوسط القلوى. وتجـــدر الإشارة إلي أن لون الأزهار فى معظم الأحوال لا يكون مقياساً حقيقياً لدرجة الـــ pH لها.

٥- تلعب صبغة الأنثوسيانين دوراً مهماً فى صناعة حفظ الأغذية فى العلب الصفيح وتسبب مشاكل عديدة أهمها:

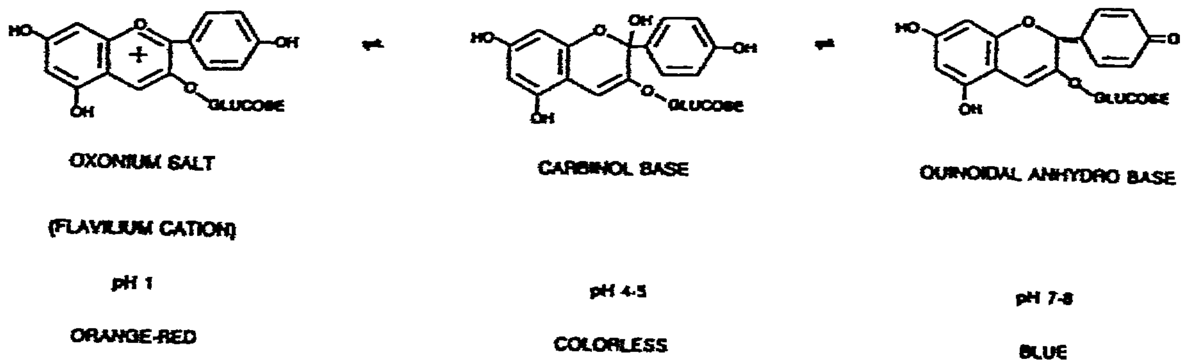
أ التغير فى اللون أثناء معاملات التصنيع الغذائى.

ب-المساعدة على حدوث التثقيب فى العلب الصفيح.

٦- أثبتت الأبحاث أن التغير فى اللون وزيادة التآكل فى معدن العلبة يـــرجع إلـــى قابلـــية صبغة الأنثوسيانين للاتحاد مع المعادن مثل الحديد والرصاص.

ولقـــد أثبـــتت الدراسات والتجارب البحثية أن الفواكه ذات الحموضة المنخفضـــة والتـــى تحتوى على كمية كبيرة من صبغات الأنثوسيانين مثل الكريـــز black cherries يحـــدث لهـــا تآكل سريع فى العلب الغير مطلاة plaomton أو يحـــدث تثقـــيب مبدئى perforation وذلك بدرجة أكبر من تلـــك الفـــواكه التى تحتوى على حموضة مرتفعة وصبغات بكمية قليلة مثل Sour cherries.

وتـــوجد صبغات الأنثوسيانين Anthocyanins فى حويصلات معظم النباتات ولقد أوضح Brouillard عام ١٩٨٢ أن اللون المرئى لها يعتمد على عـــدة عـــوامل مـــنها تركيز المادة الملونة، المذيب المستخدم، درجة الحرارة، درجـــة حموضـــة الوسط pH مدى التغير فى المركب خاصة على الحلقة B، مـــدى وجـــود مـــواد أو مكونات مصاحبة لمركبات الأنثوسيانين. ويؤثر رقم الحموضـــة بدرجـــة كبيرة على اللون، ففى الوسط الحامضى فإن هناك أربعة مـــركبات مـــن الأنثوســـيانيات يمكـــن أن توجد فى حالة اتزان، وهى قاعدة الجويـــنويدال quinonoidal base وأيـــون الفلافيلم Flavylium cation والكاربـــيول carbinol والذى يسمى pseudo base وأخيرا Chalcone، والشكل (٢٨) يوضع تأثير رقم الحموضة على مركبات صبغات الأنثوسيانين.



شكل (٨٧): تأثير الحموضة على صبغات الأنثوسيانين

ولقـــد أوضـــحت الأبحاث أن التلون فى الخلايا ذات الحموضة العالية يرجع إلى صورة الفلافيلم (AH^+) Flavyium form فقط، بينما فى الخلايا ذات رقـــم الـــ pH يـــن ٣ ٤ فـــإن اللـــون يـــرجع إلى أيون الفلافيلم Flavylium cation، الجويـــنويدال quinonoidal base، وعـــند رقـــم حموضـــة ٤ ٦ فإن اللون يرجع إلى شق quinonodal وذلك بسب إزالة بـــروتون مـــن أيون الفلافيلم الهيدروكسيلى hydroxylated flavylium cation كمـــا أوضحت الأبحاث أيضا أن المواد المصاحبة الأنثوسيانين مثل الفلافونـــويدات Flavonoids والبولى فينولات polyphenols. والقلويدات alkaloids والأحمـــاض الأمينـــية amino acids والأحمـــاض العضوية organic acids وهـــذه المركبات يمكن أن تحمى صبغات الأنثوسيانين من عملـــية التشرب hydration الذى يؤثر على اللون المتكون وبالتالى تحافظ علي اللون الأحمر.

ولقـــد درس yamada , et al عـــام ١٩٨٠ تأثيـــر كل من ألفا وبيتا سيكلودكســـترين α and β cyclodextrins علـــى ثلاثـــة مـــن مـــركبات الأنثوسانين وهى:

- Pelargonidin 3- glucoside.
- Cyanidin 3- glucoside.
- Delphinidin 3- C4 (p-conmaroyl) L-rhamnosy (1,6) glucosido 5- glucoside.

ولقـــد لـــوحظ أن إضافة البيتا سيكلو دكسترين أدى إلى تلاشي اللون الناتج عن كل من pelargonidin 3- glucosidy ومركب cyanodin 3-glucoside مـــع زيـــادة التأثير بزيادة تركيز البيتا سيكلودكسترين، بينما أدى إضـــافة الفاسيكلودكســـترين إلـــى تلاشـــي اللـــون الـــناتج عن صبغة pelarogonilin 3- glusoside فقـــط وبدرجـــة أقل عما فى حالة وجود البيتا سيكلودكسترين.

كمـــا أوضـــح أيضـــا أن ظاهرة تلاشي اللون ترجع إلى تحول أيون الفلافـــيلم Flavylium ion إلى pseudo base فى مرحلتين الأولى تكون

معقد من الأنثوسيانين مع السيكلودكسترينات ثم تحول هذا المعقد وتكوين الـــ pseudobase.

ولقد ثبت من الأبحاث أن إضافة البيتا سيكلودكسترين أدى إلى الحفاظ على صبغات الأنثوسيانين عند تخزين العصائر لمدة ١٢ أسبوعاً ويرجع ذلك إلى أن سكريات السكروز، الجلوكوز والمالتوز أدت إلى المحافظة على لون الأنثوســيانين نتيجة لانخفاض النشاط المائى حيث إن جزيئات السكر ترتبط بالماء.

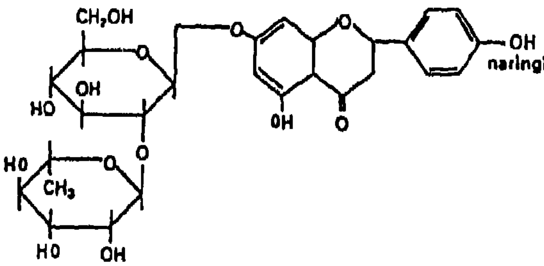
الفلافونويدات Flavonoids

وهى صبغات صفراء اللون تتميز بوجود مجموعة كربونيل (C=O) على ذرة الكربون رقم ٤ ومجموعة هيدروكسيل (OH) على ذرة الكربون رقم ٣ فــى مركب الفلافيليم Flavylium كما ترتبط مجموعة جزىء سكر عند ذرة الكربون رقم ٧.

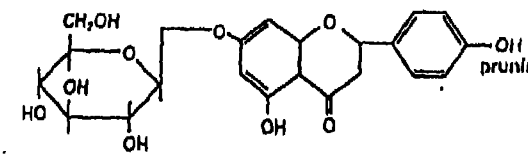
ومــن أشهر صبغات الفلافونويدات مركبات الكيورستين Quercitin والميرستين Myricetin.

وتتشـــابه الفلافوفـــويدات Flavonoids مـــع مـــركبات الفلافونون Flavonones فـــى التـــركيب البنائـــى باســـتثناء عدم احتواء الخيرة على مجموعة هيدروكسيل OH على ذرة الكربون رقم ٣.

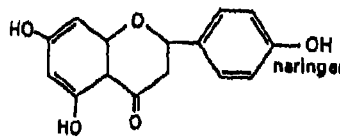
ويـــرجع إلـــى بعـــض الفلافونويدات الطعم المر bitter taste لثمار الجريب فروت Grapefruit والليمون Lemons والموالح Oranges وذلك مثل مركبات الفارنيجينول الذى يرتبط بجزىء جلوكوز ورامنوز ويمسى بـــ naringin ومركب الهسبيريدين hesperidin.



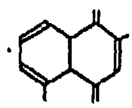
naringin



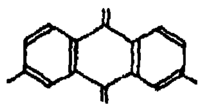
prunin



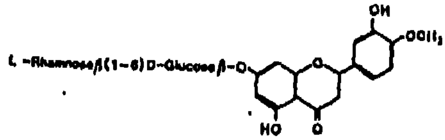
naringenin



Naphthoquinone



Anthraquinone



Hesperidin

شكل (٤٩): التركيب البنائي لبعض الفلافونات .

وقـــد وجد Maccarone وآخرون عام ١٩٨٥ أن ثبات اللون الأحمر لصـــبغات عصائر البرتقال قد تحسن بإجراء عملية البسترة باستخدام طرق الميكـــرووريف microwave وكـــذلك بإضافة حمض طرطريك Tartaric acid كوســـط حمـــض بســـيط والجلوتاثيون gluthathione كمادة مضادة للأكســـدة، وقـــد لـــوحظ أعلـــى ثبات للون عند تفاعل صبغة الأنثوسيانين anthocyanine وتكـــوين مركب معقد مع مركبات الفينولات مثل الريوتين Rutin وحمض الكافييك Caffeic acid وهذه المعقدات أكثر ثباتا.

والشكل رقم (٣٠) يوضح التركيب البنائى للمركبات المعقدة الناشئة عن تفاعلات الأنثوسيانين مع كل من(A) الـــ Rutin، حمض الكافييك (B).

ولقـــد درس كـــل من Huang & Elbe عام ١٩٨٥ حركيات الهدم والـــتحلل والتنشـــيط لصبغة البيتانين Betanine، تلك الصبغة الرئيسية فى التبخر وتذوب فى الماء وتستخدم فى تلوين الأغذية ولكن عدم ثباته الحرارى يحـــد مـــن اســـتعمالها ولقد أجريت دراسات عديدة للتعرف على الثبات الحـــرارى Thermostability للصبغة ووجد أنه فى وجود الأكسوجين فإن تفـــاعلات الهـــدم للبيتانـــين لا يتبع حركيات الدرجة الأولى، كما لوحظ أن تفاعلات الهدم تكون عكسية ويعتمد ذلك على درجة حموضة الوسط، ولزيادة الثبات الحرارى فإنه يجب تقليل تركيز الأكسوجين مع زيادة ظروف تنشيط الصبغة ما أمكن.

ولقد تم دراسة حركيات الهدم والتنشيط لصبغة البيتانين فى محاليل رقم الحموضـــة لهـــا $pH = 5$ تحت ظروف من غازى النيتروجين والأكسوجين وعلى درجات حرارة مختلفة ٦٥، ٧٥، ٨٥، ٩٠ °م كما استخدم جهاز HPLC لقـــياس وتقديـــر التغيرات التى تحدث فى كل من البيتانين ومشتقات الهدم أو الـــتحلل الـــناتجة وهـــى حمـــض البيـــتا لاميك Betalamic acid ومركب الســـيكلودوبا ٥- ارثوجليكوسيد Cyclo dopa 5-O- glycoside ولقد لـــوحظ أن مشتقات الهدم تساعد على تنشيط صبغة البيتانين. وتؤدى الحرارة إلـــى تحلـــل صـــبغة لبيتانـــين إلـــى حمـــض البيتا لاميك وسيكلودوبا ٥-

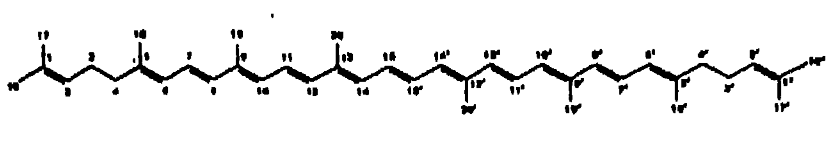
ارثوجليكوسين علاوة على أن هذا التفاعل عكسى ويحدث تفاعل تكثيف بين مجموعة الأمين فى مركب السيكلو مع مجموعة الألدهيد فى حمض البيتالاميك (تفاعل شيف) والشكل رقم (٣١) يوضح ميكانيكية تحلل صبغة البيتاتين.

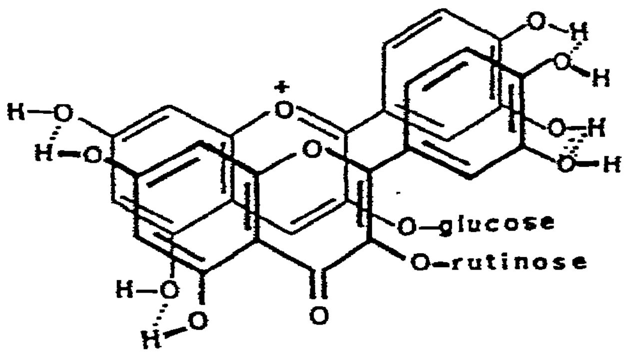
وتتضح أهمية دراسة الأنثوسيانين والفلافونويدات فى مجال معاملات التصنيع الغذائى فى أن الخواص الالكتروفيلية electrophilic character للمركب الأساسى يفسر النشاط العالى لهذه المركبات ومدى تأثيرها بوسط التفاعل والمعاملات الأمر الذى يؤدى إلى تغيرات غير مرغوبة وبالتالى لا بد من ضبط حموضة الوسط pH والحرارة وظروف الأكسدة أثناء معاملات التصنيع والتخزين.

الكاروتينويدات

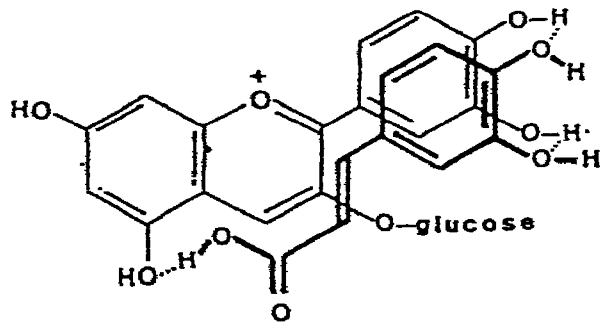
الكارتينويدات مركبات هيدركربونية عديدة الروابط الزوجية polyene hydrocarbons تتخلق حيويا من ثمانى وحدات من الأيسوبرين isoprene أو تحتوى على ٤٠ ذرة كربون فى الهيكل البنائى ويوضح الشكل التالى التركيب الأساسى للكاروتينويد carotenoid.

والكاروتينويدات تعطى كثيراً من الأغذية ومنتجاتها اللون الأصفر yellow أو البرتقالى Orange أو الأحمر red كما يختلف تركيز الكاروتينويدات فى الأغذية كما هو موضح بالجدول رقم (٦٥).





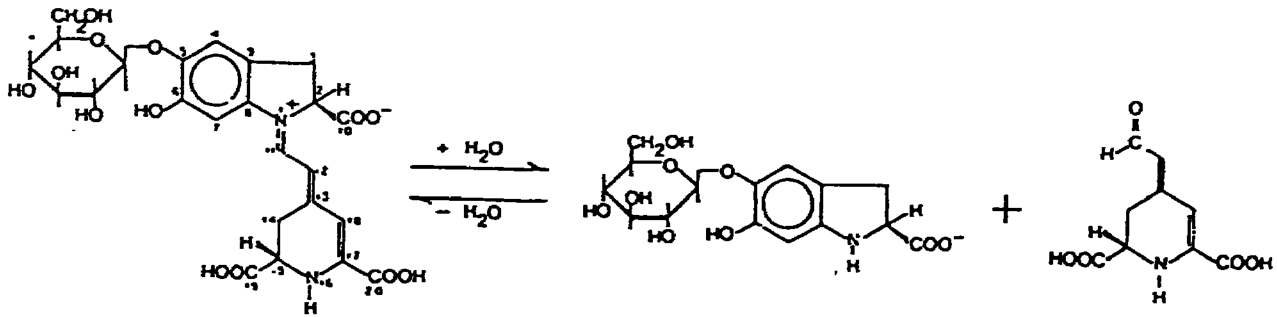
(A)



(B)

(A) Anthocyanin-Rutin complex; (B) Anthocyanin-Caffeic acid complex.

شكل (٣٠): التركيب البنائي للمركبات المعقدة الناتجة من تفاعل الأنثوسيانين مـــع (أ) الريوتين ، (ب) حمض الكافيك



-Mechanism for the degradation of betanine (betanine = cyclodopa-5-0-glycoside and betalamic acid)

شكل (٢٤): ميكانيكية هدم وتحلّل صبغات البيتانين ٠

جدول رقم (٦٥): محتوي الأغذية من الكاروتينوئيدات

Food	Concen-tration(ppm)
Carrots	54
Spinach	26-76
Tomatoes	51
Apricots	35
Peaches	27
Apples	0.9-4.4
Peas	3-7
Lemons	2-3

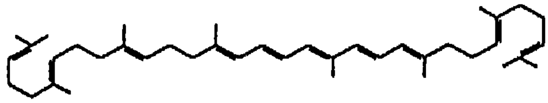
وتستخلق الكاروتينويدات فى النباتات ويمكن أن تنتقل إلى الأنسجة الحيوانية نتيجة التغذية على هذه النباتات، كما تتواجد الكاروتينويدات مع الكلوروفيللات فى الأغذية النباتية وعندما تتحلل الكلوروفيللات فى مرحلة النضج وتختفى يبدأ ظهور الكاروتينويدات كما فى تحولات الفلفل الأخضر الذى يصبح برتقاليا ثم أحمر اللون في مراحل النضج على سبيل المثال.

وتشتق أنواع الكاروتينويدات المختلفة إما بواسطة عملية هدرجة hydrogenation أو إزالة هيدروجين dehydrogenation أو تحول جزء من السلسلة الكربونية إلى صورة حلقية Cyclization فى التركيب الأساسى للكاروتينويدات السابق ذكره. وهذا التحور الحلقى يحدث فى أحد أو كلا النهايات الطرفية للسلسلة الكربونية.

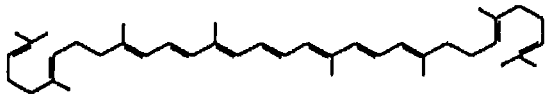
ويوضح الشكل رقم (٣٢، ٣٣) التركيب البنائى لأنواع الكاروتينويدات والزانثوفيللات المختلفة، وتعتبر المركبات ألفا α، بيتا β، جاما γ هى أشهر أنواع الكاروتينويدات الشائعة والمعروفة.



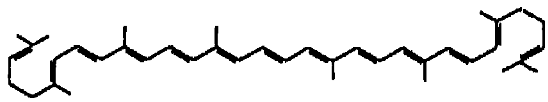
Phytoene



Phytofluene

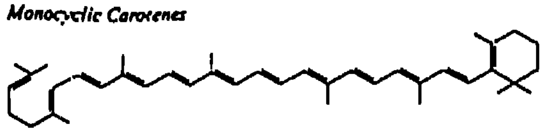


ζ-Carotene (7,8,7',8'-tetrahydro-ψ,ψ-carotene)

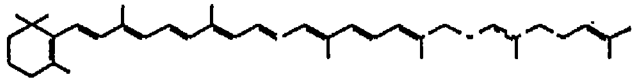


Lycopene (ψ,ψ-carotene)

Monocyclic Carotenes

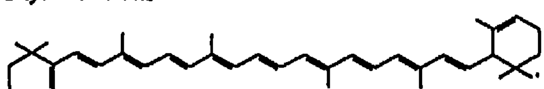


γ-Carotene (ψ,β-carotene)

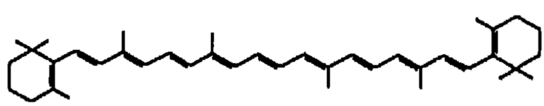


β-Zeacarotene

Bicyclic Carotenes

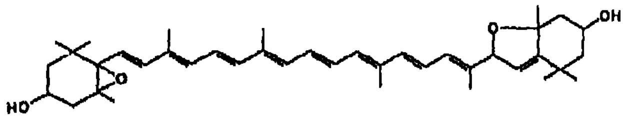


α-Carotene (β,ε-carotene)

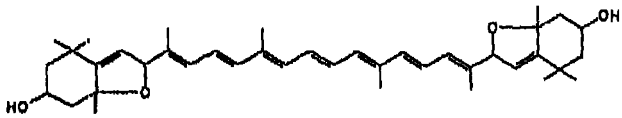


β-Carotene (β,β-carotene)

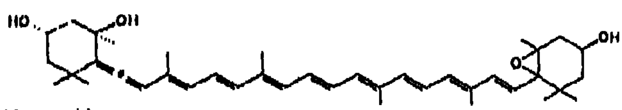
شكل (٣٢): التركيب البنائي لأهم الكاروتينويدات



Luteoxanthin



Auroxanthin

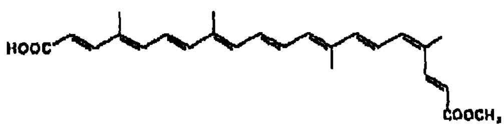


Neoxanthin

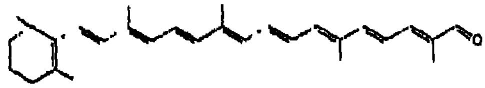
Dicarboxylic Acids and Esters



Crocetin



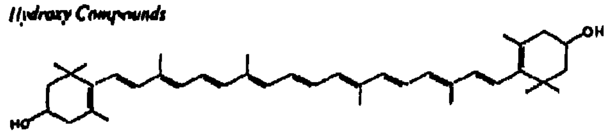
Bixin



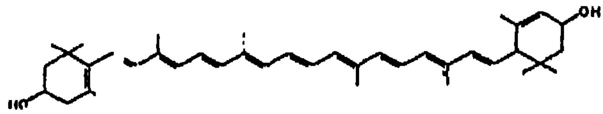
β-apo-8'-carotenal

شكل (٣٣): التركيب البنائي لأهم الزانثوفيلات

Hydroxy Compounds

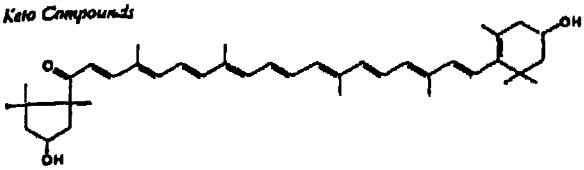


Zeaxanthin (β,β-carotene-3,3'-diol)

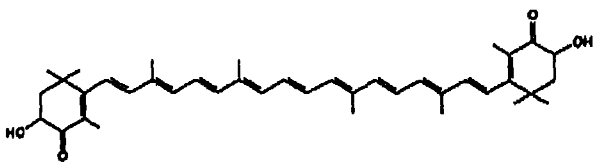


Lutein (β,ε-carotene-3,3'-diol

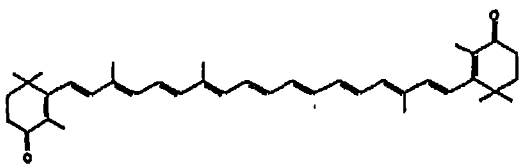
Keto Compounds



Capsanthin (3,3'-dihydroxy-β,κ-carotene-6'-one)

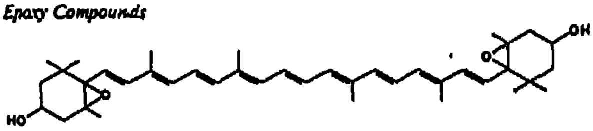


Astaxanthin

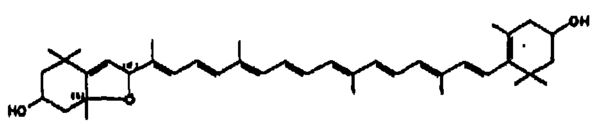


Canthaxanthin

Epoxy Compounds



Violaxanthin (zeaxanthin-diepoxide)



Mutatoxanthin (5,8-epoxy-5,8-dihydro-β,β-carotene-3,3'-diol)

والاختلاف الأساسى بين هذين القسيمن أن الكاروتينويدات عبارة عن حـــركيات هيدروكـــربونية عديـــدة عـــدم الـــروابط الـــزوجية polyene hydrocarbons فى حين أن الزانثوفيللات عبارة عن مركبات تحتوى على مجاميع هيدروكسى OH مثل مركبات Lutein , Zeaxanthin، أو مجاميع ابيوكســـيـــد مـــثل Violaxanthin , Mutatoxanthin أو مجاميع اســـتر -coo أو داى كربوكســـيل CooH مـــثل Crocetin , Bixin أو مجموعة كيتون CO مثل كابسانثين Capsanthin.

وجديـــر بالذكـــر فإن توزيع الروابط الزوجية مع مجموعات الميثيل CH_3 فى المركب هو الذى يعطى اللون المميز للصبغة.

وتعتبر مركبات الكاروتينات التى تسمى phytoene، E-carotene، phytofluene مركبات وسطية أو أولية precursor compounds والتى تعطـــى عـــند التحولات الحيوية صبغة الليكوبين Lycopene المميزة للون الأحمـــر فـــى ثمار الطماطم. هذا بالإضافة إلى أن ثمار الطماطم الصفراء يتواجد الليكوبين مع البيتا كاروتين.

ويوضـــح الجدول رقم (٦٦) تركيزات صبغات الكاروتينات فى بعض أصناف الطماطم.

كمـــا يوضح الجدول رقم (٦٧) مركبات الكاروتينويدات الرئيسية فى عصير البرتقال ونسبها المئوية من إجمال الكاروتينويدات.

وتـــتواجد غالـــبا مـــركبات الهيدروكســـى كاروتينويد Hydroxy carotenoid فى صورة استرات للأحماض الدهنية، وعلى سبيل المثال فإن عصير البرتقال يحتوى علـــى مركب ٣- هيدروكسى بيتا كاروتين 3- hydroxy B-carotene والذى يسمى Cryptoxanthin فهو يوجد فـــى صـــورة اســـتر مع أحماض اللوريك Lanric والميرسيتك myristic والبالمتيك palmitic.

جدول رقم (٦٦): تركيز صبغات الكاروتين في أصناف الطماطم

Cultivar	Phy-toene (1)	Phyto-fluene (11)	β-Caro-tene (VII)	ξ-Caru-tene (III)	γ-Caro-tene (V)	Lyco-pene (IV)
Campbell	24.4	2.1	1.4	0	1.1	43.8
Ace yellow	10.0	0.2	Trace	0	0	0
High Beta	32.5	1.7	35.6	0	0	0
Jubilcc	68.6	9.1	0	12.1	4.3	5.1

جدول رقم (٦٧): الكاروتينويدات الرئيسية في عصير البرتقال

Carotenoid	As percent of total carotenolds
Phytoene (I)	13
ξ-Carotene (III)	5.4
Cryptoxanthin	5.3
(3-Hydroxy-β-carotene) Antheraxanthin	5.8
(5.6-Ep[oxyzeaxanthin) Mutatoxanthin (XVI)	6.2
Violaxanthin (XIII)	7.4
Luteoxanthin (XIV)	17.0
Auroxanthin (XV)	12.0

جدول رقم (٦٨): اقصي طول موجي لامتصاص الاشعة

Compound	Conjugated double bonds	Wavelength, nm (petroleum ether)		
A. Effect of the number of conjugated double bonds				
Phytoene (I)	3	275	285	296
Phytofluene (II)	5	331	348	367
ξ-Carotene (III)	7	378	400	425
Neurosporene	9	416	440	470
Lycopene (IV)	11	446	470	505
B. Effect of the ring structure				
γ-Carotene (V)	11	431	462	495
β-Carotene (VII)	11	425	451	483

وبناءا على الاختلاف فى التركيب البنائى وتبعا لذلك الاختلاف فى لون الصبغة الناتج فى مركبات الكاروتينويدات فإن قيم الطول الموجى للامتصاص الضوئى تختلف، ويوضح الجدول رقم (٦٨) أقصى قيم للطول الموجى لبعض مركبات الكاروتينويدات.

وتجدر الإشارة إلى أن الاختلاف بين أنواع الكاروتينات يكمن فى أن البيتا كاروتين B- carotene والألفا كاروتين α carotene تكون الحلقات مقفلة، بينما فى حالة جاما كاروتين γ- carotene تكون إحدى الحلقتين مقفلة والثانية مفتوحة.

كما أن الاختلاف بين البيتا كارونين والألفا كاروتين يكون فى موضع الرابطة الزوجية فى الحلقات ففى حالة البيتا كاروتين تكون الرابطة الزوجية فى كلا الحلقتين بين ذرتى كربون ٥، ٦ بينما فى حالة الألفا كاروتين تكون إحدى الحلقتين تحتوى على الرابطة الزوجية بين ذرتى كربون ٥، ٦ وفى الحلقة الأخرى تكوين ذرتى كربون ٤، ٥. وفى جميع أنواع مركبات الكاروتينات تحتوى السلسلة الاليفاتية على ٩ روابط زوجية فى وضع متبادل.

وجدير بالذكر فإن البيتا كاروتين له أهمية بيولوجية حيث إنه يعتبر مولد فيتامين أ pro-vitamin A.

ولقد درس كل من Anguelova & Darthesen عام ٢٠٠٠ درجات هدم وتحلل كل من صبغات الليكوبين Lycopene وألفا كاروتين α-carotene وبيتا كاروتين β- carotene خلال مراحل أكسدة الليبيدات على درجات حرارة ٣٧، ٦٠م ولوحظ أن معدل التحلل على درجة حرارة ٣٧م كان أعلى بالنسبة لليكوبين يليلها البيتاكاروتين ثم ألفاكاروتين، وقد أدى الليكوبين والفاكاروتين إلى تثبيط تكون الهيدروبيروكسيدات Hydroperoxides، وكان الليكوبين أعلى نشاطا كعامل مضاد للأكسدة، كما وجد أن البيتا كاروتين قد يثبط تكون الهيدروبيروكسيدات عند إضافته بتركيزات منخفضة ولكنه لم يوضح أى تأثير كعامل مضاد للأكسدة عند إضافته بتركيز مرتفع، وكان معدل تحلل الكاروتينات على درجة حرارة ٦٠م

أعلـــى بمعـــدل ٦ – ٨ مرات عما على درجة ٣٧م. ولقد لوحظ أن مركبات BHT والفـــا توكوفيـــرولات المضـــادة للأكسدة كان لها تأثير مثبط لتكوين الهيدروبيروكسيدات وتحلل الكاروتينات.

الخواص الطبيعية للكاروتينويدات Physical properties of carotenoids

١- تتميـــز الكاروتيـــنويدات بأنها مركبات عالية الذوبان فى مذيبات الدهـــون وغيـــر قابلـــة للـــذوبان فـــى الماء ولذا فهى تسمى بـــ Lipochpochromes: .

٢- الكاروتيـــنويدات تســـتخلص من المصادر النباتية باستخدام مذيب البترولي‍وم ايثير أو الإيثير أو البنزين وكذلك الإيثانول والأسيتون.

٣- يـــرجع اللـــون المميـــز لمركبات الكاروتينويدات إلى وجود نظام الروابط الزوجية المتبادلة فى الجزيئى.

٤- توجد ثلاثة مجالات من الطول الموجى لامتصاص الضوء المرئى بواسطة مركبات الكاروتينويدات. ويتوقف ذلك على عدد الروابط الزوجية المتبادلة وكذا وضع مجاميع الميثل على الحلقات.

٥- يؤثر نوع المذيب المستخدم على قيم الامتصاص فى دائرة الضوء المرئى.

٦- معظـــم الكاروتيـــنويدات توجد طبيعيا فى الأغذية على الصورة ترانس Trans وهى أكثر ثباتا من الصورة سيس Cis.

٧- الكاروتينويدات مواد متبلورة لا تذوب فى الماء.

٨- تتأثردرجة اللون فى الكاروتينات على حسب نوع المذيب فقد وجد مـــن الأبحـــاث أن مادة Lycopene الموجودة فى ثمار الطماطم تظهر صفراء فى محلول الإيثير بينما تظهر حمراء داكنة فى ثانى كبريتور الأيدروجين.

الخواص الكيميائية للكاروتينويدات Chemical prperties carotenoids

١- الكاروتيـــنويدات مركبات حساسة بدرجة عالية لتأثير الأكسوجين والضوء. كما تتأثر بالمعادن مثل أملاح الحديد والنحاس.

٢- فى غياب عاملى الأكسوجين والضوء تكون الكاروتينويدات ثابتة فى الأغذية حتى فى درجات الحرارة العالية.

٣- تتأثـــر الكاروتيـــنويدات بالأكســـدة الإنـــزيمية فـــى وجود إنزيم الليبواكسوجنيز Lipoxygenase. وهذه الأكسدة تؤدى إلى تغير اللون.

٤- تغير اللون فى الكاروتينويدات من الأحمر إلى البنى يرجع جزئيا إلـــى تفـــاعلات ميلارد Mailard reaction ويرجع أساسا إلى أكســـدة صبغة الكابسانثين Capsinthin أو إلى تفاعلات البلمرة polymerization.

٥- تتأكســـد الكاروتيـــنويدات وتهـــدم وتكون مركبات عطرية تسبب رائحـــة. وتعتبـــر نـــواتج الأكســـدة α- lonone، β-lonone، β-damascenone مشـــتقة مـــن ألفا كاروتين، بيتا كاروتين، نيوكسانثين neoxanthin على الترتيب وأن هذه المشتقات تعزى إليها الرائحة المشابهة للعسل والبنفسج.

استخدام الكاروتينويدات فى التصنيع الغذائى

Use of carotenoids in food processing

تســـتخدم صبغات الكاروتينويدات كمواد ملونة فى الأغذية ومنتجاتها مـــثل المارجـــرين الآيـــس كريم الأنواع المختلفة من الجبن الجافة المشروبات اللحوم الحلوى ومنتجاتها منتجات المخابز.

وعلى ذلك تستخدم المستخلصات النباتية لهذا الغرض. فالأناتو أصفر زيتـــى تعتبـــر الصـــبغات الرئيســـية له هى البكسين Bixin والنوربكسين norbixin وكلتاهما تعطى أحماض داى كربوكسيلية عند التحلل.

كـــذلك فـــإن صـــبغة Oleoresin التـــى تـــوجد فـــى الفلفل الأحمر والمســـتخلص الزيتـــى لهـــا يحـــتوى على حوالى ٥٠ نوعاً من الصبغات، ويحـــتوى المستخلص المائى للزعفران على صبغة Crocin كصبغة رئيسية وتستخدم كمواد ملونة فى المشروبات ومنتجات المخابز.

ويحتوى زيت النخيل الخام وغير المكرر على حوالى ٠,٥ ٠,٢% كاروتيـــنويدات ألفـــا، بيتا، كاروتين بنسبة ٢: ٣ كمركبات أساسية وتستخدم كمادة ملونة فى المارجرين.

وتســـتخدم البيـــتا كاروتـــين Canlhoxauthin , γ-Carotenol والأحماض الكربوكسيلة المشتقة منها كمواد ملونة فى الزيوت والدهون، كما أن هـــذه المـــركبات عند خلطها مع المركبات ذات النشاط السطحى تستخدم كمواد مستحلبة لتلوين الأغذية ذات المحتوى المرتفع من الرطوبة.

البيتالينيز Betalains

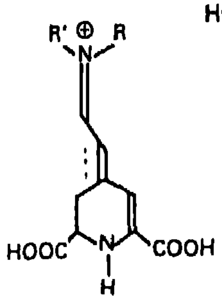
صـــبغات البيتاليـــز Betalains لا تتواجد بكثرة فى المملكة النباتية وتعتبـــر جـــذور البنجـــر الأحمـــر purple red beet roots تحتوى على تركيـــزات مـــرتفعة من هذه الصبغات، ومن أهم تلك الصبغات البيتا سيانين Betacyanine كمـــا تـــوجد تركيـــزات منخفضة من صبغات البيتا زانثين الصفراء.

ويوضـــح شـــكل (٣٤) التركيب البنائى لصبغات البيتاليز فى البنجر الأحمر.

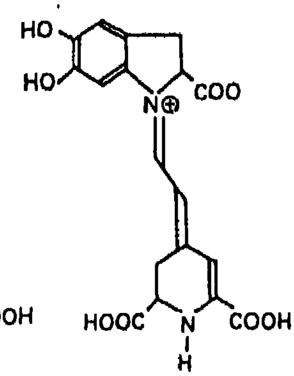
وتسمى البيتاليز بالأنثوسيانين النيتروجينى initrogen anthocynin كمـــا أنها توجد فى صورة أيونية مما يجعلها عالية القابلية للذوبان فى الماء، وبالتالى يسهل استخلاصها بالماء حيث قام كل من Schowrtz and Elbe عـــام ١٩٨٢ باستخلاص صبغات البيتاليز وتقديرها بواسطة جهاز HPLC

باستخدام ١٠٠ مل من محلول كحول الإيثانول فى الماء بنسبة ١: ١، ويعمل الكحــول علــى ترسـيب الكربوهيدرات البلمرة والبروتينات مع إيقاف أى تفاعلات إنزيمية من شأنها تسبب هدم للصبغات.

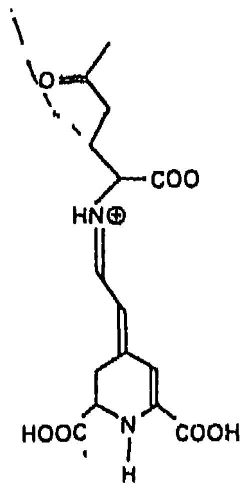
وتســتخدم الطرق الاسبكتوفوتومترية فى تقدير هذه الصبغــات حيث تعــتمد علــى قــياس الامتصاص الضوئى على أساس أن مركبات البيتانين Betanin والفولجازانثين Vulgaxanthin هى المركبات الرئيسية لصبغات البيتالييــز (البيــتا سياتين والبيتازانثين) والتى يكون لها أقصى طول موجى للامتصــاص مابين ٥٣٥ ٥٤٠ نانوميتراً للبيتانين وما بين ٤٧٦ ٤٧٨ نانوميتراً للفولجازانثين.



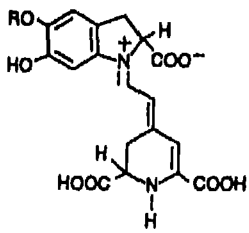
Basic structure



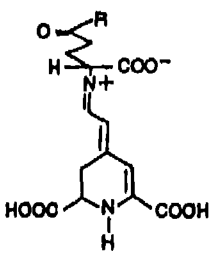
Betanidin



Vulgaxanthin I and II
I:R = NH_2
II:R = H



BETANIN R = GLUCOSE
BETANIDINE R = H
PREBETANINE
R = GLUCOSE-6-SULFATE



VULGAXANTHIN I R = NH_2
VULGAXANTHIN II R = OH

شكل(٣٤): التركيب البنائي لصبغات البيتالينيز في البنجر الاحمر .

الاعتبارات الواجب مراعاتها عند إضافة المواد الملونة فى الأغذية

١- النسب المسموح بإضافتها من المواد الملونة خاصة فى المنتجات النهائية والمعدة للاستهلاك المباشرة.
٢- يجب أن تكون الملونات من الدرجة الغذائية Food grade..
٣- مراعاة التأثيرات والخصائص الإضافية للمواد الملونة على الأغذية ومنتجاتها خاصة بالنسبة للطعم والقوام.
٤- أن تكون المواد الملونة مسموحا باستخدامها بصفة رسمية.
٥- مراعاة تأثير ظروف معاملات التصنيع الغذائى والتخزين على ثبات المواد الملونة (حرارة أكسوجين ضوء النشاط المائى حموضة أو قلوية الوسط) نشاط إنزيمى تفاعلات ميلارد.
٦- مراعاة تأثير أيونات المعادن والتلوث المعدنى للأغذية على فقد اللون المميز نتيجة نشاط تفاعلات الأكسدة للمواد الملونة.
٧- مراعاة التعرف على ماهية اللون المطلوب والمناسب حيث قد يتطلب الأمر خلط نوعين أو أكثر من المواد الملونة للوصول إلى درجة اللون المطلوب.
٨- طبيعة المادة الغذائية المراد إضافة المواد الملونة لها هل هى سائلة أو دهنية مدى وجود البروتينات والمواد القابضة التى قد تحد من استعمال بعض الملونات مثل الأنثوسيانين هل المنتج شفاف أم معتم.
٩- الشكل الذى توجد عليه المادة الملونة هل هى سائلة مسحوق حبيبات ومراعاة خصائص كل منها.
١٠- مراعاة التشريعات الدولية فى مجال المواد الملونة المضافة.
١١- مراعاة التشريعات والمواصفات الحكومية الخاصة بسلامة الغذاء فيما يختص بتنظيم استخدام وتداول المواد الملونة فى الأغذية يتمثل ذلك فى قرارات وزارة الصحة فى هذا المجال.

جدول (٦٩): خواص المواد الملونة المضافة للأغذية ومنتجاتها

اسم المادة الملونة	اللون المميز	المذيب	طول الموجة	الاستخدام الغذائي
المواد الملونة الطبيعية Natural colourants				
بيتاكاروتين β-carotene	برتقالى	سيكلو هكسان	٤٥٣-٤٥٦	المشروبات البودنج الحلوى الزبادى
لليكوبين Lycoene	برتقالى	هكسان	٤٧٨	كاتشب الصلصة
بيتا ابو ٨٠ كاروتينال β- Apo-8-carotene	برتقالى	سيكوهكسان	٤٦٠-٤٦٢	الصلصة المشروبات الحلوى ومنتجاتها
ريبوفلافين Riboflavin	أصفر	ماء	٤٤٥	مايونيز البودنج الحلوى المرق
انثرسيانيدين Anthocyaninin	أحمر بنفسجى	ماء	٥٢٠-٥٤٦	المربى المشروبات فيشا
كيوركيبومين Curcmin	أصفر أحمر	ايثانول	٤٢٦	المستردة
كانثازاثين Canthaxanthin	برتقالى	كلورفورم	٤٨٥	المشروبات منتجات الطماطم
بيكسين Bixn	برتقالى	كلوروفورم	٤٧١-٥٠٣	الدهون المايونيز
كارمين Carmine	احمر	محلول أمونيا	٥١٨	مشروبات كحولية
كلورفيل Chlorophyll	أخضر	كلورفورم	٤١٢	الزيوت الغذائية
كلورفيلين Chlorophylin	اخضر	مساء	٤٠٥	الحلوى ومنتجاتها السوئل الجيلى
المواد الملونة الصناعية Synthetic colourants				
التارتازين Tartazine	اصفر ليمونى	ماء	٤٢٦	البودنج الجاف الحلوى ومنتجاتها أيس كريم
صن ست Sunset FCF	برتقالى	ماء	٤٨٥	المشروبات الفاكهة المحفوظة الحلوى
كارموسين Carmosine	أحمر مزرق	ماء	٥١٦	المشروبات الحلوى ومنتجاتها أيس كريم بودنج
امارانث Amaranth	أحمر مزرق	ماء	٥٢٠	المشروبات الفاكهة المحفوظة الحلوى المربى
بونيكيو Ponceau 4 R	قرمزى	ماء	٥٠٥	المشروبات منتجات الحلوى الجبن
ارثيروسين Erthrosine	أحمر فراولة	ماء	٥٢٧	المربى الحلوى ومنتجاتها
أحمر ٢ج Red 2G	أحمر مزرق	ماء	٥٣٢	الحلوى ومنتجاتها
انديجوكارمين Endigo carmine	أرجوانى	ماء	٦١٠	الحلوى ومنتجاتها والسوائل
أزرق ف Blue V	أزرق	ماء	٦٣٨	المشروبات الحلوى ومنتجاتها
بريليانت أزرق Brilliant blue	أزرق	ماء	٦٣٠	المشروبات الحلوى ومنتجاتها
أخضر س Green S	أخضر	ماء	٦٣٢	الحلوى ومنتجاتها
بلاك إن Black N	بنفسجي	ماء	٥٧٠	الحلوى ومنتجاتها

جدول رقم (٧٠): المواد الملونة المصرح بها

Common Name	الترقيم الدولي INS	الدليل اللوني Color index	اسم المادة
Curcumin; Turmeric yellow	100	75300	أصفر الكركم
i) Riboflavin; Lactoflavin	101 I		– ريبوفلافين
ii) Riboflavin-5-phosphate	101 ii		– ريبوفلافين –٥–فوسفات
Tartrazine; FD & C yellow #5	102	19140	تارترازين
Quinoline yellow	104	47005	أصفر الكيولين
Sunset yellow FCF; FD&C yellow #6	110	15985	أصفر غروب الشمس
Carmines; Cochineal extract	120	75470	مستخلص الكوشينيلا (كارمين)
Carmoisine, Azorubine	122	14720	كارمويزين (ازوربين)
Ponceau 4R; Cochineal red A; New Coccine	124	16255	بونسو ٤ آر بيوكوكسين أحمر الكوشيلا ايه
Red 2G; Azogeranine	128	18050	أحمر ٢ جي (ازوجرانين)
Allura Red AC; FD & C Red #4	129	16035	أحمر الاليورا ايد سي
Indigotine; FD & C Blue #2	132	73015	الديجولين، ايديجو كلومين
Brilliant blue FCF; FD&C Blue #1	133	42090	الازرق اللامع
Chlorophylls and Chlorophyllins:	140		الكلوروفيلات:
i) Chlorophylls	140 I	75810	– الكلوروفين
ii) Chlorophyllins	140 Ii	75815	– الكلوروفيلين
Copper complexes of chlorophylls and chlorophyllins:	141		مركب النحاس للكلوروفيل والكلوروفيلين:
i) Copper complexes of chlorophylls	141 I		– مركب النحاس للكلوروفيل
ii) Copper complexes of chlorophyllins sodium and potasssium salts	141 ii		– مركب النحاس للكلوروفيلين
Fast Green FCF; FD&C Green #3	143	42053	الأخضر الثابت
Plain caramel	150 a	Class I	
Caustic sulphite caramel	150 b	Class II	
Ammonia caramel	150 c	Class III	
Sulphite ammonia caramel	150 d	Class IV	
Brilliant Black PN	151	28440	

تابع جدول رقم (٧٠): المواد الملونة المصرح بها

Common Name	الترقيم الدولي INS	الدليل اللوني Color index	اسم المادة
Brown HT; Chocolate brown HT			البني الشيكو لاته اتش تي
Carotenes:	160 a		الكاروتينات:
i) Mixed Carotenes	160 ai	75130	– مخلوط الكاروتينات
Ii) Beta-Carotene	160 aii	40800	– بيتا كاروتين
Annatto extracts (bixin, norbixin)	160 b	75120	مستخلص اناتو (بكسين، نوربكسين)
Paprika extract; Paprika Oleoresins	160 c		مستخلص بابريكا (بابريكا أوليوزيزن)
Lycopene; Gamma Carotene	160 d	75125	ليكوبين (جاما كاروتين)
Beta-apo-8-Carotenal	160 e	40820	بيتا أبو –٨– كاروتينال
Ethylester-beta-apo-8-Carotenoic acid	160 f	40825	اثيل استر لبيتا أبو –٨– كاروتينال
Lutein; Xanthophylls	161 b		ليوثين
Beetroot Red (Beet Red)	162		أحمر البنجر
Anthocyanins	163 I		– أنثوسيانين المخضر بطرق طبيعية من الفواكه والخضر
Grape skin extract	163 ii		– مستخلص غلاف العنب
Calcium carbonate	170 I	77220	كربونات الكالسيوم (تلوين سطحي/خارجي فقط)
Titanium dioxide	171	77891	ثاني اكسيد التيتانيوم
Fruit juices, concentrate, powders:			**الفاكهة وعصائرها ومركزاتها ومساحيقها:**
Berries, currants (blackcurrents)			– ثمار العليق، التوتيات، الكشمش (عنب الديب)
Citrus fruits			– الموالح (الحمضيات)
Drupes (cherry, plum, prunus)			– ثمار وحيدة النواة مثل الكريز والخوخ والبرقوق
Melon family			– عائلة الفارون (البطيخ والشمام ومايشابه)
Rose hips (Hipberries)			– ثمر الورد البري الوردي
Tomato			– الطماطم
Pineapple, mango, kiwi			– ثمار الأناناس، المانجو، الكيوي
Vegetables as juice, powder:			**الخضر وعصائرها ومساحيقها:**
Pulses (pea flower)			– زهرة البازلاء (البسلة)
Carrot			– الجزر
Cabbage			– الكرنب
Beet root			– البنجر

Spinach	- السبانخ
Nettles (Utrica)	الباوبنج
Alfalfa	- البرسيم الحجازي
Yellow and red turnip	- اللفت الاصفر والاحمر
Sweet potato	- البطاطا
Capsicum varieties (Cayenne Papper)	- الفلفل بانواعه
Cereals, roasted and fermented:	**الحبوب (محمصة أو مخمرة)**
Maize	- الذرة الصفراء
Purple corn	- الذرة الارجوانية
Rye	- الشيلم
Barley	- الشعير
Spices, herbs, flavourings:	**توابل وأعشاب ومنكهات**
Saffron	- الزعفران
Sandelwood (red)	- خشب الصندل الاحمر
Carthamus red, yellow (Safflower)	- القرطم
Paprika	-الفلفل الاحمر (بابريكا)
Sage	- المرمرية (المريمية)
Parsley	- البقدونس
Shallots	- الكراث ابو شوشه (الاندلسي)
Violets	- البنفسج
Burdock	- البردقوش
Miscellaneous:	**مصادر طبيعية متنوعة**
Malt	- المولت (الشعير المنبت)
Molasses	- المولاس
Yeast	- الخميرة
Cocoa	- الكاكاو
Coffee	- البن
Egg yolk	- صفار البيض
Carob flour	- مسحوق الخروب
Liquorice	- عرقسوس
Honey	- عسل النحل
Burnt sugar	- السكر المحروق
Hibiscus	- الكركديه
Tea	- الشاي
Mate	- ماتيه
Crustacea	- قشريات مجربة
Nuts	- نقل (مكسرات)
Mushrooms	- عيش الغراب (المشرووم)

وهناك أغذية ومنتجات غذائية غير مصرح بإضافة ألوان إليها وهى:

١- لبن سائل غير منكه.
٢- لبن الخض.
٣- لبن الفرز أو مسحوق.
٤- مشروب لبن الشيكولاته.
٥- المنتجات اللبنية المخمرة غير المنكهة وغير المطعمة بالفاكهة.
٦- الألبان المكثفة أو المبخرة ومسحوقها.
٧- القشـــدة مسحوقة أو مبسترة أو معقمة أو معاملة بالحرارة العالية للخفق أو مخفوقة.
٨- الأجـــبان غير المسواة غير المنكهة (مثل الجبن الأبيض، الجبن القريش وغيرها).
٩- جبن الشرش.
١٠-الفاكهة والخضراوات الطازجة وعيش الغراب.
١١-الفاكهة والخضروات غير المعاملة.
١٢-لب وبيورية ومعجون الفاكهة والخضراوات والأنواع الفاخرة من المربى والمرملاد.
١٣-معجون ومركزات الطماطم.
١٤-منتجات الفاكهة والخضراوات المخمرة.
١٥-منتجات الكاكاو.
١٦-المكونات المستخدمة فى تصنيع الشيكولاته.
١٧-الحبوب كاملة أو مكسورة أو مبشورة.
١٨-الدقيق والنشا والردة.
١٩-الخبــز والمخبوزات (فيما عدا بعض الأنواع المصرح بإضافة ألوان لها).
٢٠-اللحوم والدواجن غير المعاملة.
٢١-الأسماك والقشريات والرخويات الطازجة.
٢٢-البــيض الطـــازج (مصرح فقط بإختام وتلوين القشرة الخارجية للمناسبات).

٢٣-منتجات البيض السائلة أو المجمدة والمجففة والمخثرة.
٢٤-السكر شاملا قمع السكريات الأحادية والسكريات الثنائية والمحاليل السكرية والشراب المجفف (فيما عدا سكر النبات).
٢٥-عسل النحل.
٢٦- الملح وبدائل الملح.
٢٧-الأعشاب والتوابل.
٢٨-خل النبيذ.
٢٩-منتجات الطماطم (فيما عدا صلصة الطماطم الحريفة والكاتشب الحريف والمنتجات المماثلة).
٣٠-الخميرة.
٣١-أغذية الرضع والأطفال والتركيبات التكميلية وتركيبات الفطام.
٣٢-مياه الشرب المعبأة.
٣٣-البن وبدائل البن والشاى والشيكولاتة.
٣٤-مستخلص الشاى والشيكوريا ومحضرات من النباتات لعمل مشروبات والتحضيرات السريعة الذوبان.
٣٥-زيوت الطعام السائلة.
٣٦-حلاوة الطحينية والطحينة.
٣٧-حلاوة و مسحوق الفول السودانى.
٣٨-العسل الأسود والمولاس.
٣٩-العصائر الطبيعية بدون إضافات.

كما أن هناك أغذية ومنتجات غذائية يصرح بإضافة مواد ملونة محددة إليها يمكن إيضاحها على النحو التالي:

المادة الغذائية	الألوان المصرح بها	أقصى تركيز مسموح بها
خبز المولت وخبز الرجيم	الكاراميل	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
المرجرين · المسلى الصناعي	ميتازين الكاروتينات، أصفر الكركم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
		ـــ ١٠ مليجرامات / كيلوجرام
الجنب المطبوخ غير المنكه	كاروتينات، بايزيكا	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
	أناتو	١٥مليجراما / كيلوجرام
الجبن المطبوخ المنكه	ارانو	١٥ مليجراما / كيلوجرام
	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥- فوسفات، كلورفيل وكلورفيلين، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، احمر البنجر، اندوسانين	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
الجبن المسوى	انانو	٢٠ مليجراما / كيلوجرام
	كاروتينات، باريركا	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
الجبن غير المسوى المنكه	اناتز	٢٠ مليجراما / كيلوجرام
	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥- فوسفات كلورفيل وكلوروفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، احمر البنجر، انثوسيانين	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
الخل (ماعدا خل النبيذ)	الكاراميل	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
شراح وحبيبات البطاطس المجففة	أصفر الكركم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
البيرة	الكاراميل	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
القشرة الخارجية للبسطرمة	أصفر الكركم، ريبوفلافين وريبوفلافين -٥-فوسفات، مستخلص الكوشينيلا	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
بطارخ السمك	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥-فوسفات، كلورفيل وكلورفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، احمر البنجر، أنثوسيانين، ثانى أكسيد ثيتانويم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
بدائل اللحم والسمك أساسها من البروتين النباتى	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥-فوسفات، كلورفيل وكلورفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، احمر	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP

	البنجر، أنثوسيانين، ثانى أكسيد ثيتانويم	
	اصفر الكركم، نارترازين، اصفر	تضاف منفردة أو مجتمعة وبحيث
	الكيلولين، مستخلص الكوشينيلا، احمر	لاتزيد عن ١٠٠ مليجرام /
	الاليورا، أنديجوتين، الازرق اللامع،	كيلوجراما
	الأخضر الثابت، ليكوبين، بيتا ابو ٨٠	
	- كاروتينال، اثيل استر لبيتا ٠ ابو -٨-	
	كاروتينال	
	الصفر غروب الشمس، كارموزين،	تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث
	نيتركوكسين، البنى الشيكولاته	لاتزيد عن ٥٠ مليجرام /
		كيلوجرام لكل لون منفردا أو
		مخلوطا مع الملونات السابقة
سمك السلمون المدخن	أناتو	١٠ مليجرامات /كيلوجرام
حبوب الأفطار (سيريال	كاراميل (امونيا) كاروتينات، بابريكا	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
الأفطار) المصنعة بالبثق		
الحرارى أو المنتقشة		
و/أو بطعم للفاكهة		
	أناتو	٢٥ مليجراما / كيلوجرام
بدائل الجبن:	ريبوفلافين وريبوفلافين ٥-٥٠	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
-جبن نباتى الدهن	فوسفات، كلورفيل وكللورفيلين ومركب	
-جبن من فول	النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا،	
الصويا	احمر البنجر، أنثوسيانين	
	أناتو	١٥ مليجراما / كيلوجرام
خضر معبأة فى الخل	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥-فوسفات،	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
أو لمحلول الملحى أو	كلوروفيل وكلورفيلين، الكاراميل،	
الزيت والمخللات فيما	كاروتينات، احمر البنجر، أنثوسيانين	
عدا الزيتون		
المربى والمرملاد	اصفر الكركم، ريبوفلافين وريبوفلافين	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
والبدائل المماثلة لها	-٥-فوسفات، كلورفيل وكلوروفيلين،	
فيما عدا الأنواع	الكاراميل، كاروتينات، باربريكا، احمر	
الفاخرة	البنجر، أنثوسيانين	
	مستخلص الكوشينيلا، اصفر الكينولين،	١٠٠ مليجرام / كيلوجرام
	اصفر غروب الشمس، نيوكوكسين،	
	ليكوبين، ليوتين، الاخضر الثابت	
منتجات اللحوم	الكاراميل، احمر البنجر	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
والدواجن المستحلبة		
(مثل السوسيس		
والفرانكفورتر وباتيه		
اللحوم والسجق ...إلخ)		
	أصفر الكركم	٢٠ مليجراما / كيلوجرام
	الكاروتينات	٢٠ مليجراما / كيلوجرام

	مستخلص بابريكا	١٠ مليجراما / كيلوجرام
	مستخلص الكوشينيلا	١٠٠ مليجرام / كيلوجرام
اللانشون	أحمر الاليورا	٢٥ مليجرام / كيلوجرام
	أحمر البنجر	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
البرجر (بحيث لا تقل الخضر و/أو الحبوب عن ٤%)	مستخلص الكوشينيلا	١٠٠ مليجرام / كيلوجرام
	الكاراميل	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
منتجات محلاة تقدم بعد الوجبات وغير الواردة في بنود أخرى (Desserts)	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥-فوسفات، كلورفيل وكلورفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، باربريكا، احمر البنجر، انثوسيانين، ثانى اكسيد الكتيتنيوين	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
	اصفر الكركم، تارترازين، أصفر الكيتولين، مستخلص الكوشينلا، أحمر الاليورا، انديجوتين الأزرق اللامع، الاسود اللامع، الاخضر الثابت، ليكوبين، ليوتن، بيتا - ابو-٨- كاروتينال، اثيل استر لبيتا -ابو-٨- كاروتينال	تضاف هذه الألوان منفردة أو مجتمعة وبحيث لايزيد عن ١٥٠ مليجراما / كيلوجرام
	اصفر غروب الشمس، كارموزين، نيوكوكسين، البنى الشيكولاته	تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث لاتزيد عن ٥٠ مليجراما / كيلوجرام
	اناتو	١٠ مليجرامات / كيلوجرام
مقرمشات (سناكس) من الحبوب أو البطاطس أو الأرز	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥- فوسفات، كالورفيل وكلوروفيلن، الكارميل، كالرتينات، بابريكا، أحمر البنجر، انثوسيانين، ثانى اكسيد التيتانيوم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
	أصفر الكركم، مستخلص الكوشنيلا	١٠٠ مليجرام / كيلوجرام للمملح ١٠٠ مليجرام / كيلوجرام للمنتفش
	أناتو	٢٠ مليجراما / كيلوجرام للمنتفش ١٠ مليجراما / كيلوجرام للمملح
المثلوجات اللبنية ومساحقيها	ألوان طبيعية مصرح بها	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
الزبادى المطعم بالفاكهة أو المنكهة	ألوان طبيعية مصرح بها	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
حبوب الافطار (سيريال الافطار) بطعم الفواكه (مصنعة بطرق أخرى)	مستخلص الكوشينيلا، احمر البنجر، انثوسيانين	٢٠٠ مليجرام / كيلوجرام منفردة أو مجتمعة

حبوب الافطار (سيريال الافطار) خلاف ما سبق	ريبوفلافين وريبوفلافين ٥- فوسفات، كلوروفيل وكلوروفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر البنجر، انثوسيانين، ثانى أكسيد التيتانيوم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
الحلوى الجافة والحلوى السكرية واللبان	ريبوفلافين وريبوفلافين ٥ فوسفات، كلورفيل وكلورفيلين، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر البنجر، أنثوسيانين، ثانى أكسيد التيتانيوم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
	اصفر الكركم، تارترازين، أصفر الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر الاليورا، انديجوتين الأزرق اللامع والأسود اللامع، الأخضر الثابت، ليكوبين، ليوتن، بيتا ابو-٨ كاروتينال، اثيل استر لبيتا ابو-٨ كاروتينال	تضاف هذه الألوان منفردة أو مجتمعة وبحيث لايزيد عن ٣٠٠ مليجرام / كيلوجرام
	أصفر غروب الشمس، كارموزين، نيوكوكسين، البنى الشيكولاته	تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث لا تزيد عن ٥٠ مليجراما / كيلوجرام
	اناتو	٢٠ مليجراما / كيلوجرام بغرض الزخرفة والتغطية فقط
المكرونة والمنتجات المماثلة	ألوان طبيعية مصرح بها	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
الأرز	كربونات الكالسيوم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP وذلك بغرض التبييض
كريم كارميل من اللبن	أساسه الكاراميل	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
المنتجات المصنعة من الدقيق (مثل الفطائر، الكيك والمنتجات المماثلة)	ألوان طبيعية مصرح بها	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
المثلوجات المائية ومساحيقها	ريبوفلافين وريبوفلافين ٥- فوسفات كلوروفيل وكلورفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر البنجر، انثوسيانين، ثانى أكسيد التيتانيوم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
	أصفر الكركم، تارترازين، أصفر الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر الاليورا، انديجوتين والأزرق اللامع، الاسود اللامع، الأخضر الثابت، ليكوبين، ليوتن، بيتا ابو-٨- كاروتينال، اثيل	تضاف هذه الألوان منفردة أو مجتمعة وبحيث لا يزيد عن ١٥٠ مليجراما / كيلوجرام

	استر لبيتا -ابو-٨- كاروتينال	
	أصفر غروب الشمس، كاروموزين،	تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث
	ليوكوكسين، البنى الشيكولاته	لا تزيد عن ٥٠ مليجرام / كيلوجرام
	اناتو	٢٠ مليجراما / كيلوجرام
الكاتشب الحريف	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥- فوسفات،	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
وصلصة الطماطم	كلوروفيل وكلوروفيلين ومركب النحاس،	
الحريفة	الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، احمر	
	البنجر، انثوسيانين، ثانى اكسيد التيتانيوم	
	أصفر الكركم، تارترازين، أصفر	تضاف هذه الألوان منفردة
	الكيتولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر	أو مجتمعه بحيث لا يزيد عن
	الاليورا، انديجوتين، الأزرق اللامع،	١٥٠ مليجراما / كيلوجرام
	الأسود اللامع، الأخضر الثابت،	
	ليكوبين، ليوتن، بيتا -ابو-٨ كاروتينال،	
	اثي استر لبيتا - ابو-٨- كاروتينال	
	اصفر غروب الشمس، كارموزين،	تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث
	ليوكوكسين، البنى الشيكولاته	لا تزيد عن ٥٠ مليجراما / كيلوجرام
الصوصات بجميع	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥- فوسفات	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
أنواعها بشرط أن لا	كلوروفيل وكلورفيلين ومركب النحاس،	
يكون أساسها من	الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، احمر	
الطماطم	البنجر، انثوسيانين، ثانى أكسيد التيتانيوم	
	اصفر الكركم، تارترازين، اصفر	تضاف هذه الألوان منفردة أو
	الكيتولين، مستخلص الكوشنيلا، احمر	مجتمعة وبحيث لا تزيد عن ١٥٠
	الاليورا، انديجوتين، الأزرق اللامع،	مليجراما / كيلوجرام
	الأسود اللامع، الأخضر الثابت،	
	ليكوبين، ليوتن، بيتا -ابو-٨ كاروتينال،	
	اثي استر لبيتا -ابو-٨- كاروتينال	
	اصفر غروب الشمس، كارموزين،	تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث لا
	يونسو ٤ ار، البنى الشيكولاته	تزيد عن ٥٠ مليجراما / كيلوجرام
الحساء والمرق في	ريبو وريبوفلافين -٥- فوسفات	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
صورها المختلفة	كلوروفيل، وكلوروفيلين ومركب	
	النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا،	
	احمر البنجر، انثوسيانين	
	اصفر الكركم، تارترازين، اصفر	تضاف هذه الألوان منفردة أو
	الكيتولين، مستخلص الكوشنيلا، احمر	مجتمعة وبحيث لا يزيد عن ٥٠
	الاليورا، انديجوتين، الأزرق اللامع،	مليجراما / كيلوجرام
	الأسود اللامع، الأخضر الثابت،	
	ليكوبين، ليوتن، بيتا -ابو-٨ كاروتينال،	
	اثي استر لبيتا -ابو-٨- كاروتينال	
	اصفر غروب الشمس، كارموزين،	تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث

نيوكوكسين، البنى الشيكو لاته   لاتزيد عن ٥٠ ميجراما / كيلوجرام
المستردة والمايونيز   ريبوفلافين وريبوفلافين ٥- فوسفات طبقا لقواعد التصنيع الجيد (GMP)
كلوروفيل وكلورفيلين ومركب النحاس،
الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، احمر
البنجر، انثوسيانين، ثانى أكسيد التيانيوم
أصفر الكركم، تارترازين، أصفر تضاف هذه الألوان منفردة أو
الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر مجتمعة وبحيث لا يزيد عن ١٥٠
الاليورا، انديجوتين، الأزرق اللامع، مليجراما / كيلوجرام
الأسود اللامع، الأخضر الثابت،
ليكوبين، ليوتن، بيتا ابو-٨ كاروتينال،
اثي استر لبيتا - ابو-٨- كاروتينال
أصفر غروب الشمس، كاروموزين، تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث لا
نيوكوكسين، البنى الشيكو لاتة   تزيد عن ٥٠ مليجراما / كيلوجرام
شراب   الفاكهة الوان طبيعية مصرح بها   طبقا لقواعد التصنيع الجيد (GMP)
الطبيعى وعصائر
الفاكهة بإضافات
نكتار الخضروات   ريبوفلافين وريبوفلافين ٥- فوسفات طبقا لقواعد التصنيع الجيد (GMP)
كلوروفيل وكلورفيلين ومركب النحاس،
الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر
البنجر، انثوسيانين
المشروبات: ريبوفلافين وريبوفلافين ٥- فوسفات طبقا لقواعد التصنيع الجيد (GMP)
١-مشروبات غير   كلوروفيل وكلورفيلين ومركب النحاس،
كحولية منكهة أساسها م الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر
الماء (مثل المشروبات البنجر، انثوسيانين، ثانى أكسيد التيانيوم
الغازية وغير الغازية،
المشروبات السكرية،
المشروبات منخفضة
السعرات ومشروبات
الرياضيين الخ)
٢- مشروبات الكولا الكاراميل
الغازية
٣-الشراب الصناعى اصفر الكركم، تارترازين، أصفر تضاف هذه الألوان منفردة أو
- يراعى أن تكون الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر مجتمعة وبحيث لا يزيد عن ١٠٠
تركيزات الملوثان بعد الاليورا، انديجوتين، الأزرق اللامع، مليجرام / كيلوجرام
التخفيف طبقا لما هو الأسود اللامع، الأخضر الثابت،
موضح   ليكوبين، ليوتن، بيتا ابو-٨ كاروتينال،

٤-مساحيق المشروبات - يراعى ان تكون تركيزات الملونات بعد التحضير طبقا لما هو موضح	اثي استر لبيتا -ابو-٨- كاروتينال		
	أصفر غروب الشمس، كارموزين، نيوكوكسين، البنى الشيكولاته	تضاف منفردة أو مجتمعة لا تزيد عن ٥٠ مليجراما / كيلوجرام	
مكملات غذائية سائلة	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥- فوسفات	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP	
	كلوروفيل وكلورفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر البنجر، انثوسيانين، ثانى أكسيد التيانيوم		
	أصفر الكركم، تارترازين، اصفر الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر الاليورا، انديجوتين، الأزرق اللامع، الأسود اللامع، الأخضر الثابت، ليكوبين، ليوتن، بيتا -ابو-٨ كاروتينال، اثي استر لبيتا -ابو-٨- كاروتينال	تضاف هذه الألوان منفردة أو مجتمعة وبحيث لا يزيد عن ١٠٠ مليجرام / كيلوجرام	
مكملات غذائية سائلة	أصفر غروب الشمس، كاموزين، نيوكوكسين، البنى الشكولاته	تصاف منفردة أو مجتمعة لا تزيد عن ٥٠ مليجراما / كيلوجرام	
مكملات غذائية صلبة	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥- فوسفات	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP	
	كلوروفيل وكلورفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر البنجر، انثوسيانين، ثانى أكسيد التيانيوم		
	أصفر الكركم، تارترازين، اصفر الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، احمر الاليورا، انديجوتين، الأزرق اللامع، الأسود اللامع، الأخضر الثابت، ليكوبين، ليوتن، بيتا -ابو-٨ كاروتينال، اثي استر لبيتا -ابو-٨- كاروتينال	تضاف هذه الألوان منفردة أومجتمعة وبحيث لا يزيد عن ٣٠٠ مليجرام / كيلوجرام	
	أصفر غروب الشمس، كارموزين، نيوكوكسين، البنى الشكولاته	تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث لاتزيد عن ٥٠ مليجرام / كيلوجرام	
تركيبات الأغذية خاصة للتحكم فى الوزن أو الاستعمال تحت الإشراف الطبى	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥- فوسفات	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP	
	كلوروفيل وكلورفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر البنجر، انثوسيانين، ثانى أكسيد التيانيوم		
	اصفر الكركم، تارترازين، أصفر الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر	تضاف هذه الألوان منفردة أو مجتمعة وبحيث لا يزيد عن ٥٠	

	الألورا، اندجوتين، الأزرق اللامع، الأسود اللامع، الأخضر الثابت، ليكوبين، ليوتين، بيتا ابو ٨ كاروتينال، اثي استر لبيتا ابو ٨ كاروتينال.	ملجرام / كيلو جرام
تركيبات الأغذية خاصة للتحكم في الوزن أو للاستعمال تحت الإشراف الطبي	أصفر غروب الشمس، كارموزين، نيوكوكسين، البني الشكولاته	منفردة أو مجتمعة بحيث لا تزيد عن ٥٠ ملجرام / كيلو جرام
	ريبوفلافين وريبوفلافين ٥ فوسفات، كلوروفيل وكلوروفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر البنجر، انثوسيانين، ثاني أكسيد التيتانيوم أصفر الكركم، سانثوزانثين، أصفر الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر الألورا، اندجوتين، الأزرق اللامع، الأسود اللامع، الأخضر الثابت، ليكوبين، ليوتين، بيتا ابو ٨ كاروتينال، اثي استر لبيتا ابو ٨ كاروتينال،	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
	أناتو	٢٠ ملجرام / كيلو جرام
الكريز المعلب والمجفف	أحمر البنجر، انثوسيانين	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
	الكوشنيلا، أحمر الألورا	تضاف هذه الألوان منفردة أو مجتمعة بحيث لا تزيد عن ١٥٠ ملجرام / كيلو جرام
	كارموزين، نيوكوكسين	تضاف منفردة أو مجتمعة بحيث لا تزيد عن ٥٠ ملجرام / كيلو جرام
مشروبات كحولية فيما عدا البيرة	يصرح باستخدام الملونات المذكورة في ملحق القرار الأوروبي ٩٤/٣٦ الخاص بالملونات جدول رقم	
منتجات تستخدم بغرض الحشو والتغطية، التزيين للحلوى ومنتجات المخابز. Toppings, Fillings, Coatings, Decorations	ريبوفلافين وريبوفلافين ٥ فوسفات، كلوروفيل وكلوروفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر البنجر، انثوسيانين، ثاني أكسيد التيتانيوم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
	أصفر الكركم، تارترازين، أصفر الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر الألورا، اندجوتين، الأزرق اللامع، الأسود اللامع، الأخضر الثابت، ليكوبين، ليوتين، بيتا ابو ٨ كاروتينال،	تضاف هذه الألوان منفردة أو مجتمعة بحيث لا تزيد عن ٥٠٠ ملجرام / كيلو جرام

	اثي استر لبيتا -ابو-٨- كاروتينال	
	أصفر غروب الشمس، كارموزين، نيوكوكسين، البنى الشكولاته	تضاف منفردة أو مجتمعة لا تزيد عن ٥٠ مليجراما / كيلوجرام
	اناتو	٢٠ مليجراما / كيلوجرام
الجيلى، الكريم كراميل ليس أساسه اللبن والبودنج والمنتجات المماثلة الخ.	ريبوفلافين وريبوفلافين -٥- فوسفات كلوروفيل وكلورفيلين ومركب النحاس، الكاراميل، كاروتينات، بابريكا، أحمر البنجر، انثوسيانين، ثانى أكسيد التيانيوم	طبقا لقواعد التصنيع الجيد GMP
	أصفر الكركم، تارترازين، أصفر الكينولين، مستخلص الكوشنيلا، أحمر الأليورا، انديجوتين، الأزرق اللامع، الأسود اللامع، الأخضر الثابت، ليكوبين، ليوتن، بيتا -ابو-٨ كاروتينال، اثي استر لبيتا -ابو-٨- كاروتينال	تضاف هذه الألوان منفردة أو مجتمعة وبحيث لا يزيد عن ١٥٠ مليجراما / كيلوجرام
	اصفر غروب الشمس، كارموزين، نيوكوكسين، البنى الشكولاته	تضاف منفردة أو مجتمعة لا تزيد عن ٥٠ مليجراما / كيلوجرام
	اناتو	١٠ مليجرام / كيلوجرام

الحموضة فى الأغذية

Food Acidity

هناك مصطلحان متلازمان فى تحليل الأغذية هما رقم الحموضة الـ pH والحموضة الكلية titratable acidity وكلاهما يقدر بطريقة مختلفة عن الآخر، رقم الحموضة يقدر بواسطة جهاز pH meter بينما الحموضة الكلية تقدر بعملية المعايرة بواسطة محلول قلوى معلوم التركيز العيارى.

وجدير بالذكر فإن الأحماض العضوية تؤثر بدرجة ملحوظة على نكهة الأغذية Food flavor والجودة Quality. وتتأين هذه الأحماض جزيئا وبالتالى تتأثر خواص الغذاء نتيجة هذه الأيونات، كما أن الحموضة بالأغذية تؤدى إلى تقليل درجة الحلاوة Sweetness مع زيادة الحموضة بها وبالتالى تؤدى على التأثير على درجة تقبلها Palatability، كذلك تؤثر الحموضة عل القيمة الغذائية وتلعب دوراً مهماً فى المحافظة على التوازن بين الحمض والقاعدة بالجسم.

وجدير بالذكر فإن رقم الحموضة الـ pH ونسبة الحموضة الكلية تؤثر على جودة منتجات الفاكهة حيث يتحكم الـ pH فى عملية تكوين الجيل أو فى القوة الجيلية كذلك يؤثر فى ترسيب الكازين فى المنتجات اللبنية.

كما تدل نسبة الحموضة ونوعيتها على حدوث فساد فى منتجات الطماطم واللبن والبيرة ومنتجات الأسماك المعلبة والمنتجات المتخمرة، كما لوحظ أن وجود حمض الجلاكتوورنيك فى منتجات الفاكهة يدل على حدوث تعفن فطرى، كما أن وجود الأحماض الدهنية الحرة فى الزيوت والدهون ومنتجاتها يدل على حدوث تحلل جليسريدى بفعل إنزيمات الليباز، كما تتجمع الأحماض العضوية أثناء تحميص البن والفول السودانى وغيرها نتيجة عملية الهدم الحرارى.

وتختلف نسبة الحموضة بين المواد الغذائية المختلفة حيث تصل بين ٠,٢ ٠,٣% في التفاح، ٢% في الكريز وإلى أكثر من ٦% في الليمون بينما تنخفض نسبة الحموضة في منتجات الأسماك.

ويسود حمض الستريك في الخضراوات والفاكهة عدا التفاح فيحتوى على حامض الماليك بينما يسود حمض اللاكتيك في اللحوم والدواجن والأسماك والألبان وحمض الطرطريك في العنب وحمض الخليك في الخل.

وتقدر الحموضة الكلية Total titratable acidity عن طريق تنقيط عينة المادة الغذائية مباشرة (مستخلص مائى) مع محلول معلوم التركيز العيارى من أيدروكسيد الصوديوم في وجود دليل فينول فثالين أو دليل بروتيمول بلو لتحديد نقطة التعادل، وتحسب عدد المكافئات من القلوى اللازم للمعايرة ثم تضرب في الوزن المكافئ للحمض السائد لحساب كمية الحموضة التى تنسب الى وزنه العينة الغذائية لتقدير النسبة المئوية للحموضة.

وفي حالة العينات الغذائية الملونة مثل الفراولة والكريز والبنجر فقد اقترح استخدام أدلة معينة لتحديد نقطة التعادل مثل:

١- دلائل الفلورسينت مثل دليل داى كلوريد فلورسين.

٢- دليل ايوسين ج.

٣- دلائل مختلطة.

ويوضح الجدول رقم (٧١، ٧٢) نسب أحماض الماليك والستريك والحموضة الكلية في بعض الخضر والفاكهة.

جدول (٧١): نسب أحماض الماليك والستريك والحموضة الكلية بالفواكه

نوع الفاكهة	حامض الماليك (%)	حامض الستريك (%)	الحموضة الكلية معبرا عنها فى صورة الحامض السائد (%)
التفاح	١,٠٢	٠,٠٣	١,٠٥
المشمش	٠,٣٣	١,٠٦	١,٣٧
الموز	٠,٥٠	٠,١٥	٠,٦٦
الكريز	١,٤٥	–	١,٤٥
الجريب فروت	٠,٠٨	١,٣٣	١,٤١
عصير العنب	٠,٣١	٠,٠٢	١,٤٤
عصير الليمون	٠,٢٩	٦,٠٨	٦,٣٦
البرتقال	٠,١٨	٠,٩٢	١,٠٩
الكمثرى	٠,١٦	٠,٤٢	٠,٥٧
الخوخ	٠,٦٩	٠,٠٥	٠,٧٤
الأناناس	٠,١٢	٠,٧٧	٠,٨٨
البرقوق	١,٤٤	–	١,٤٤
التوت الأسود	٠,٠٥	٠,٨١	٠,٨٦
الفراولة	٠,١٦	١,٠٨	١,٢٣

المصدر: Josyln (1970)

جدول (٧٢): نسبة أحماض الماليك والستريك والحموضة الكلية بالخضراوات

نوع الخضراوات	حامض الماليك (%)	حامض الستريك (%)	الحموضة الكلية معبرا عنها في صورة الحامض السائد (%)
الخرشوف	٠,١٧	٠,١٠	٠,٢٦
الأسبراجاس	٠,١٠	٠,١١	٠,٢٢
بنجر السلاطة		٠,١١	٠,١١
الفاصوليا الخضراء	٠,١٣	٠,٠٣	٠,١٦
كرنب البروكولي	٠,١٢	٠,٢١	٠,٣٢
الكرنب	٠,١٠	٠,١٤	٠,٢٤
الجزر	٠,٢٤	٠,٠٩	٠,٣٣
القرنبيط	٠,٣٩	٠,٢١	٠,٦١
الكرات Celery	٠,١٧	٠,٠١	٠,١٨
الخيار	٠,٢٤	٠,٠١	٠,٢٥
الباذنجان	٠,١٧		٠,١٧
الخس Lettuce	٠,١٧	٠,٠٢	٠,١٩
عش الغراب المشروم	٠,١٤		٠,١٤
البامية	٠,١٢	٠,٠٢	٠,١٤
البصل	٠,١٧	٠,٠٢	٠,١٩
البسلة	٠,٠٨	٠,١١	٠,١٩
البطاطس البيضاء		٠,٥١	٠,٥١
البطاطا		٠,٠٧	٠,٠٧
الكوسة (القرع)	٠,٣٢	٠,٠٤	٠,٣٦
الطماطم	٠,٠٥	٠,٤٧	٠,٥٢

المصدر: Josyln (1970)

الأغذية بتركيبها الكيمائى تحتوى على مجموعة متباينة من الأحماض العضـوية تتمثل فى أحماض دورة كربس krebs cycle acids، الأحماض الدهنـية fatty acids، الأحماض الأمينية amino acids ونظريا فإن هذه الأحمـاض تسهم فى الحموضة التنقيطية titratable acidity كما أن عملية المعايـرة لا تفرق بين نوعية هذه الأحماض طالما أن كل منها يحتوى على مجمـوعة كربوكسـيل Coo، ولهـذا فـإن الحموضة التنقيطية تعبر عن الحموضـة الفعلـية أو السائدة فى العينة predominant acid وفى بعض الحـالات فـإن هناك نوعين من الأحماض العضوية توجد بتركيزات عالية بالنسـبة لبقية الأحماض الموجودة بالمادة الغذائية، حيث إن حمض الماليك malic acid يسـود فى مرحلة ما قبل النضج فى العنب بينما يسود حمض الطرطـريك tartaric acid فـى مرحلة النضج، كذلك فإن حمض الماليك وحمـض الستريك تتبادل السيادة فى وجودهما فى مراحل النضج للكمثرى، وتجدر الإشارة إلي أن الأوزان المكافئة للأحماض الغذائية فى مراحل النضج تكـون متساوية، ولذا فإن نسبة الحموضة لا تتأثر فعليا سواء بوجود نوعى الحـامض فـى مراحل النضج أو بانعدام وجود الحمض الأقل تركيزا، لأن نسـبة الحموضـة تعـتمد على أساس وجود نسبة الحمض العضوى السائد (الطرطريك فى حالة العنب والستريك فى حالة الكمثرى مثلا). كما أن درجة النضـج يمكـن أن تحدد بتقدير نسبة درجة التركيز بالبركس إلى الحموضة Brix / acid ratio وعلى هذا فإن نكهة وجودة المنتج الغذائى لا يعزى فقط إلـى نسـبة الحموضـة. وكذلك فإن نسبة البيركس إلى الحامض تتأثر بعدة عـوامل مـثل عملـيات الـزراعة horticultural practices والمـناخ Climate والصنف أو النوع Variety.

ويوضح الجدول رقم (٧٣) التركيب الكيميائى لنوعية الأحماض العضوية السائدة وتركيز السكر لأهم أصناف الفاكهة فى مرحلة النضج.

جدول رقم (٧٣): التركيب الكيميائي للأحماض العضوية السائدة وتركيز السكر لأهم أصناف الفاكهة

Fruit	*Principal acid*	*Typical per-Cent acid*	*Typical °Brix*
Apples	Malic	0.27-1.02	9.12-13.5
Bananas	Malic/citric (3:1)	0.25	16.5-19.5
Cherries	Malic	0.47-1.86	13.4-18.0
Cranberries	Citric	0.9-1.36	
	Malic	0.70-0.98	12.9-14.2
Grapefruit	Citric	0.64-2.10	7-10
Grapes	Tartaric/malic (3:2)	0.84-1.16	13.3-14.4
Lemons	Citric	4.2-8.33	7.1-11.9
Limes	Citric	4.9-8.3	8.3-14.1
Oranges	Citric	0.68-1.20	9-14
Peaches	Citric	1-2	11.8-12.3
Pears	Malic/citric	0.24-0.45	11-12.3
Pineapples	Citric	0.78-0.84	12.3-16.8
Raspberries	Citric	1.57-2.23	9-11.1
Strawberries	Citric	0.95-1.18	8-10.1
Tomatoes	Citric	0.2-0.6	4

المصدر : Suzanne (1998)

الحسابات والتحويلات الخاصة بتفاعلات المعايرة والتعادل

وحدات التركيز Concentration units

عند إجراء التقدير الكمى للمكونات المختلفة فى المواد الغذائية يجب أن تحضـــر محالـــيل الجواهر الكشافة المستخدمة فى التقدير بتركيزات محددة ومعلومة، كما يجب إجراء التخفيف المناسب للمدى الذى تجرى فيه التجربة أو القياس.

وتـــوجد وحـــدات مختلفة للتعبير عن التركيز يمكن توضيحها كما فى الجدول رقم (٧٤) حيث يوضح وحدة التركيز والاختصار العلمى له وتعريفه والمعادلة الحسابية له.

ويعـــتمد محلـــل الأغذيـــة على استخدام التركيز المئوى prcentage وكذلك التركيز العيارى Normality والتركيز المولر Molarity من أكثر الاصـــطلاحات العلمـــية المستخدمة فى التعبير عن وحدة التركيز للمحاليل المســـتخدمة فـــى تحلـــيل الأغذية. وعلى ذلك يجب أن يكون ملما بعمليات التحويل من وحدة إلى أخرى.

وتعكـــس وحـــدة التركيز المولر (M) Molarity الكمية بالمول من المادة المذابة فى اللتر من المحلول بينما وحدة التركيز العيارى Normality تعكس الكمية بالمكافئ من المادة المذابة فى اللتر من المحلول.

وهناك علاقة بين التركيز المولر والتركيز العيارى توضحها المعادلة التالية:

١ مولر = هـ عيارى

جدول (٧٤): المصطلحات المختلفة للتعبير عن التركيز في المحاليل

Unit	*Symbol*	*Definition*	*Relationship*
Molarity	*M*	Number of moles of solute per liter of solution	$M = \frac{\text{moles}}{\text{liter}}$
Normality	*N*	Number of equivalents of solute per liter of solution	$N = \frac{\text{equivalents}}{\text{liter}}$
Percent by weight (parts per hundred)	wt %	Ratio of weight of solute to weight of solute plus weight of solvent × 100	$wt = \frac{\text{wt solute} \times 100}{\text{total wt}}$
	wt/vol%	Ratio of weight of solute to total volume × 100	$wt\% = \frac{\text{wt solute} \times 100}{\text{total volume}}$
Percent by volume	vol%	Ratio of volume of solute to total volume	$vol\% = \frac{\text{vol solute} \times 100}{\text{total volume}}$
Parts per million	ppm	Ratio of solute (wt or vol) to total wt or vol × 1,000,000	$ppm = \frac{\text{mg solute}}{\text{kg solution}}$ or $= \frac{\text{ng solute}}{\text{g solution}}$ or $= \frac{\text{mg solute}}{\text{liters solution}}$ or $= \frac{\text{ng solute}}{\text{ml solution}}$
Parts per billion	ppb	Ratio of solute (wt or vol) to total wt or vol × 1,000,000,000	$ppb = \frac{\text{ng solute}}{\text{liters solution}}$ or $= \frac{\text{ng solute}}{\text{kg}}$ or $= \frac{\text{fg solute}}{\text{ml}}$ or $= \frac{\text{fg solute}}{\text{g}}$

وتختلف قيمة هـ تبعا لنوع التفاعل هل هو تفاعل حموضة وقلوية أم تفاعل تبادل مزدوج بين الأملاح أم تفاعل أكسدة واختزال، كذلك تبعا للوسط الذى يتم فيه التفاعل بمعنى قد يكون التفاعل أكسدة واختزال لمركب معين، ولكن هل هذا التفاعل يتم فى وسط قلوى أم حامضى. لأن نواتج التفاعل سوف تختلف. ولتوضيح ذلك نقول فى حالة تفاعلات الحموضة والقلوية acid base reaction فإن قيمة هـ فى الأحماض تعبر عن عدد أيونات الهيدروجين المستبدلة فى التفاعل، وعلى ذلك فإن قيمة هـ تساوى واحداً فى حالة حمض أيدروكلوريك وتساوى ١ أو ٢ فى حالة حمض الكبريتيك (ويتوقف ذلك على مرحلة التفاعل من الحمض) كذلك الحال فان قيمة هـ قد تساوى ١ أو ٢ أو ٣ فى حالة حمض الفوسفوريك وهكذا.

بينما فى حالة القلويات والقواعد فإن قيمة هـ تعبر عن عدد مجاميع الأيدروكسيل المستبدلة فى التفاعل ولذا فهى تساوى واحداً فى حالة أيدروكسيد الصوديوم وأيدروكسيد البوتاسيوم وتساوى ٢ فى حالة أيدروكسيد الكالسيوم أو أيدروكسيد الماغنسيوم مثلا إلخ

$$H\,cl + NaOH \rightarrow Na\,cl + H_2O$$

هـ = ١ فى حالة حمض الأيدروكلوريك أو أيدروكسيد الصوديوم

$$H_2SO_4 + NaOH \rightarrow Na\,HSO_4 + H_2O$$ هـ = ١

$$\rightarrow NaSO_4 + H_2O$$ هـ = ٢

وفى حالة الأملاح مثل فوسفات الصوديوم الهيدروجينية NaH_2PO_4 فإن:

هـ = ١ عند تقدير عنصر الصوديوم.

هـ = ٢ عند تفاعل ملح الفوسفات لتقدير الحموضة.

هـ = ٣ عند تقدير الفوسفات فى الملح.

وفى حالة تفاعلات الأكسدة والاختزال تقدر قيمة هـ على أساس تقدير التغير فى رقم التأكسد فى التفاعل، وهنا يلزم معرفة نوعية الوسط

الذي سوف يجري فيه التفاعل هل يتم تفاعل الأكسدة والاختزال في وسط حامضي أم وسط قلوي مثال ذلك برمنجنات البوتاسيوم في الوسط الحامضي تختزل إلى أيون منجنوز ويكون التغير في رقم التأكسد هو ٥ وفي حالة الوسط القلوي تختزل البرمنجنات إلى ثاني أكسيد منجنيز ويكون التغير في رقم التأكسد هو ٣ .

$$MnO_4^- \xrightarrow[\text{هـ} = 5]{H^+} Mn^{2+}$$

$$MnO_4^- \xrightarrow[\text{هـ} = 3]{OH^-} MnO_2$$

وفي حالة حمض الأكساليك $H_2C_2O_4$ فإنه عند تفاعله تفاعل حموضة وقلوية فإن قيمة هـ = ٢ أو ١ وعند تفاعله تفاعل أكسدة واختزال فإن قيمة هـ = ٢ فقط.

وهناك بعض القواعد في حساب قيمة رقم التأكسد في بعض الحالات وهي:

١ رقم تأكسد العنصر في الحالة النقية = صفر .
٢ رقم تأكسد الأيون = شحنته.
٣ رقم تأكسد الجزيء أو المركب = صفر .
٤ رقم تأكسد الهالوجينات = -١ .
٥ رقم تأكسد الصوديوم أو البوتاسيوم = +١.
٦ رقم تأكسد الكبريت في أملاحه = -٢.
٧ رقم تأكسد الهيدروجين = +١.
٨ رقم تأكسد الأيدروجين في الهيدرات = -١.
٩ رقم تأكسد الأكسوجين = -٢.
١٠ رقم تأكسد الأكسوجين في حالة فوق الأكسيد = -١.

وتتلخص العلاقات فى هذا المجال فيما يلى:

$$\text{الوزن المكافئ} = \frac{\text{الوزن الجزيئى}}{\text{هـ}}$$

١ مولر = هـ مكافئ

١ مولر = هـ عيارى

الكمية المذابة بالمول = حجم المحلول (لتر) × التركيز لمولر

الكمية المذابة بالمكافئ = حجم المحلول (لتر) × التركيز العيارى

الوزن بالجرام = الكمية بالمكافئ × الوزن المكافئ

فى أى تفاعل الكمية بالمكافئات من المادة (أ) = الكمية بالمكافئات من المادة (ب)

كما تستخدم مواد قياسية لتقدير قوة أو عيارية المحاليل المختلفة المستخدمة فى التحليل ويشترط فى هذه المواد ما يلى:

١- أن تكون معروفة التركيب البللورى والرمز الجزيئى.

٢- لا تتزهر أى لا تفقد جزئيات ماء.

٣- لا تتميع أى لا تمتص رطوبة من الجو.

٤- يفضل وزنها المكافئ الكبير لتلافى مصادر الخطأ.

٥- نقية وخالية من الشوائب.

وتقدر كمية والتركيز المئوى للحموضة الكلية فى الأغذية ومنتجاتها على أساس تقدير كمية الأحماض العضوية فى العينة الغذائية مقدرة على أساس أشهر هذه الأحماض فى المادة الغذائية المختبرة وتجرى عملية التقدير بواسطة عملية معايرة وزنة من العينة فى وسط مائى بتنقيط محلول قلوى معلوم التركيز (أيدروكسيد صوديوم ٠,١ع) وتحسب النسبة المئوية للحموضة من المعادلة التالية:

$$\text{\% للحموضة} = \frac{\text{ح} \times \text{ع} \times \text{م} \times ١٠٠}{١٠٠٠ \times \text{وزن العينة}}$$

حيث:

ح حجم القلوى اللازم لعملية المعايرة الكاملة.

ع لتركيز العيارى للمحلول القلوى.

م الوزن المكافئ لأشهر الأحماض العضوية فى العينة الغذائية المختبرة.

والجدول رقم (٧٥) توضح الوزن الجزيئى و الوزن المكافىء للأحماض العضوية الغذائية الشائعة.

جدول رقم (٧٥): الأوزان الجزيئية والمكافئة للأحماض العضوية الغذائية الشائعة

Acid	*Chemical formula*	*Molecular weight*	*Equivalents per mole*	*Equivalent weight*
Citric (anhydrous)	$H_3C_6H_5O_7$	192.12	3	64.04
Citric (hydrous)	$H_3C_6H_5O_7H_2O$	210.14	3	70.05
Acetic	$HC_2H_3O_2$	60.06	1	60.05
Lactic	$HC_3H_5O_3$	90.08	1	90.08
Malic	$H_2C_4H_4O_5$	134.09	2	67.05
Oxalic	$H_2C_2O_4$	90.04	2	45.02
Tartaric	$H_2C_4H_4O_6$	150.09	2	75.05
Ascorbic	$H_2C_6H_6O_6$	176.12	2	88.06
Hydrochloric	HCl	36.47	1	36.47
Sulfuric	H_2SO_4	98.08	2	49.04
Phosphoric	H_3PO_4	98.00	3	32.67
Potassium acid phthalate	$KHC_8H_4O_4$	204.22	1	204.22

رقم الحموضة pH تعتمد نظرية Bonsted , Lowry فى عمليات التعادل على الاصطلاحات التالية:

الحامض acid وهو المركب المعطى للبروتونات، وفى النظم الغذائية فإن البروتون المعطى هو أيون الهيدروجين.

القاعدة base وهى المركب المستقبل البروتون.

التعادل Neutrnlization عبارة عن التفاعل بين حامض مع قاعدة لتكوين ملح ويمثلها على سبيل المثال المعادلة التالية:

$$HCl + NaOH \rightarrow NaCl + H_2O$$

Acid base salt

وتكـون الأحمـاض عـند تأينها ما يعرف بـ hydrated protons تسمى أيونات الهيدرونيوم hydronium ions (H_3O^+) بينما تكون القواعد أيونات هيدروكسيل hydroxyl ions (OH) فى المحاليل المائية.

$$H_3O^+ + OH \rightarrow 2H_2O$$

وعـند أى درجـة حـرارة فـإن لتركيـز المـولارى molar concentration لكـل من أيونات H_3O^+ , OH^- يكون ثابتاً يعرف بثابت التفكك للماء Kw.

$$[H_3O^+][OH^-] = Kw$$

ويتأثـر قـيمة الـ Kw بدرجات الحرارة حيث تكون عند رقم ٢٥م مسـاوية ١,٠٤ × ١٠$^{-١٤}$ بيـنما تكون مساوية ٥٨,٢ × ١٠$^{-١٤}$ عند درجة ١٠٠م.

وفـى حالـة المـاء النقـى (الوسـط المتعادل) فإن تركيز أيونات الايدروجين والهيدروكسيل عند درجة ٢٥م يكون متساوياً ويقدر بـ ١×١٠$^{-١٤}$، وإذا أضـيف إلـى المـاء النقى بضع من حامض فإن تركيز أيونات الهيدرونـيوم سـوف تزداد وعلى ذلك فإن قيمة Kw تظل ثابتة نظرا لأن تركيـز أيونات الهيدروكسيل سوف تقل ونفس الظاهرة يمكن ملاحظتها عند إضافة قاعدة إلى الماء النقى أيضا.

ويوضـح الجـدول رقـم (٧٦) تركيـزات أيـونات الهيدرونـيوم والهيدروكسيل فى الأغذية عند درجة ٢٥م.

ويعبـر رقم الحموضة الـ pH عن اللوغاريتم السالب لتركيز أيونات الأيدروجـين معبرا عنه في صورة جزيء / مول فى اللتر، وعلى ذلك فإنه عـندما يكـون تركيـز أيونات الهيدرونيوم ١ × ١٠$^{-٦}$ يكون رقم الـ pH يساوى ٦، كما أن تركيز أيونات الأيدروكسيل يعبر عنها بـ POH.

ويوضح الجدول رقم (٧٧) العلاقة بين تركيز أيونات الأيدروجين وقيم الـ pH، تركيز أيونات الأيدروكسيل ورقم POH عند درجة ٢٥م.

حساب قيمة الـ pH لمحلول عينة غذائية:

إذا علمنا أن تركيز أيونات الأيدروجين لمستخلص الكولا هو ٢,٢٤× ١٠^-٣ فما هو قيمة الـ pH.

$$pH = - Log [H^+]$$

$$= - Log\ 2.24 \times 10^{-3}$$

$$Log\ 2.24 = 0.350$$

$$Log\ 10^{-3} = -3$$

$$pH = 0.350 + (-3) = -2.65$$

$$pH = 2.65$$

جدول رقم (٧٦): تركيزات أيونات الهيدرونيوم والأيدروكسيل في الأغذية على درجة ٢٥م

Food	$[H_3O^+]^1$	$[OH^-]^1$	K_W
Cola	2.24×10^{-3}	4.66×10^{-12}	1×10^{-14}
Grape juice	5.62×10^{-4}	1.78×10^{-11}	1×10^{-14}
SevenUp	3.55×10^{-4}	2.82×10^{-11}	1×10^{-14}
Schitz beer	7.95×10^{-5}	1.26×10^{-10}	1×10^{-14}
Pure water	1.00×10^{-7}	1.00×10^{-7}	1×10^{-14}
Tap water	4.78×10^{-9}	2.09×10^{-6}	1×10^{-14}
Milk of magnesia	7.94×10^{-11}	1.26×10^{-4}	1×10^{-14}

جدول رقم (٧٧): العلاقة بين تركيز الأيدروجين والهيدروكسيل وقيم الـ pH، الـ pOH

$[H^+]^1$	pH	$[OH^-]^1$	POH
1x10	0	$1x10^{-14}$	14
10^{-1}	1	10^{-13}	13
10^{-2}	2	10^{-12}	12
10^{-3}	3	10^{-11}	11
10^{-4}	4	10^{-10}	10
10^{-5}	5	10^{-9}	9
10^{-6}	6	10^{-8}	8
10^{-7}	7	10^{-7}	7
10^{-8}	8	10^{-6}	6
10^{-9}	9	10^{-5}	5
10^{-10}	10	10^{-4}	4
10^{-11}	11	10^{-3}	3
10^{-12}	12	10^{-2}	2
10^{-13}	13	10^{-1}	1
10^{-14}	14	10^{0}	0

حساب تركيز أيونات الأيدروجين بمعلومية قيمة الـ pH:

إذا علمت أن مستخلصا غذائيا قيمة الـ pH له هى ٤,٣ فما هو تركيز أيونات الأيدروجين.

$$pH = - Log [H^+]$$

$$4.30 = - Log [H^+]$$

$$-4.30 = Log [H^+]$$

يكمل المعكوس الرقمى الذى يكمل الرقم الصحيح التالى (وفى هذه الحالة يكون الرقم التالى هو 5).

$$- 4.30 = 0.7 - 5$$

$$antilog\ 0.7 = 5$$

$$antilog\ \ 5 = 10^{-5}$$

تركيز أيونات الأيدورجين $[H^+] = 5 X 10^{-5} M$

ويتضح أن قيمة الـــ pH هى قيمة لوغارتمية وليست قيمة رياضية أو حســـابية ولذا فإن أى تغير مقداره وحدة واحدة فى رقم الـــ pH يقابله تغير مقداره عشرة أمثال تركيز أيونات الأيدروجين.

ولهـــذا يجـــب الإدراك أن قـــيم الــ pH والحموضة التتقيطية ليست متساوية، كما أن الأحماض القوية مثل الكبريتيك والأيدروكلوريك والنيتريك تكون تامة التأين أو التفكك عند رقم حموضة يساوى ١ .

ويختلف قيمة الـــ pH فى حالة الأحماض القوية المعدنية عن الأحماض الضـــعيفة العضـــوية وعلـــى سبيل المثال فإن حمض Hcl تعطى قيمة pH مســـاوية ١,٠٢ عند درجة حرارة ٢٥م بينما يعطى حمض الستريك قيمة pH مساوية ٢,٨٩ حيث إن ١% فقط من حمض الستريك يتأين عند درجة ٢٥م.

معادلـــة هندرســـون هالســـياخ Handerson Hassibalch equation

معظـــم الأحمـــاض فـــى الكائنات الحية والخلايا عبارة عن أحماض ضـــعيفة ويشار إلى قوة الحمض الضعيف بدرجة تفككه dissociation أو تأيـــنه ionization وثابت الحموضة Ka الذى يمكن الحصول عليه بتطبيق معادلـــة فعـــل الكتلة على تفاعلات تفكك الأحماض أو القواعد يمكن التعبير عنها كما يلى:

$$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$$

$$Ka = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

وكلما زادت قيمة Ka ازداد عدد أيونات الأيدروجين المتحررة من كل جــزىء مــن الحمض فى المحلول، وتعبر معادلة Ka عن قيم الفاعلية التى ترتبط بالتركيز حيث إن:

$$a = \gamma c$$

قــيمة a هى الفاعلية activity , (C) هى التركيز بينما γ تعبر عن معامــل الفاعلية activity coefficient التى تعكس مدى الانحراف المثالى بســبب القــوى بــين الأيونات interionic والقوى الأخرى بين الجزيئات intermolecular، وفــى التركيزات المنخفضة تنعدم هذه القوى وينخفض الفــرق بين التركيز والفاعلية إلى الحد الأدنى، وتكون معظم قياسات تركيز أيونات الأيدورجين هى قياسات للفاعلية أكثر منها قياسات للتركيزات.

ويحتوى الماء على كميات متساوية من أيونات الهيدروكسيل $[OH^+]$ وايــونات الأيدروجين $[H^+]$ (حوالى ١٠^٧ جزىء جرامى من كل منهما فى اللتر).

ويتفكك الماء وفقا للتفاعل التالى:

$$2\,H_2O \rightleftarrows H_3O^+ + [OH^-]$$

$$Keq = \frac{[H_3O^+]\,[OH^-]}{[H_2O]^2}$$

ويمكن تمثيل الحاصل الأيونى للماء وثابت الاتزان بالمعادلة التالية:

$$Kw = (\,55.4)^2\,Keq = [H_3O^+]\,[HO]^-$$

وعــند درجة ٢٥م تكون قيمة Kw حوالى ١٠^-١٤ ويمكن التعبير عن Kw كما يلى:

$$pKw = pH + pOH$$

وفي حالة المحاليل المتعادلة أو الماء النقي فإن قيمة الـ pH تساوي ٧ حيث إن قيمة الـ pKw = ١٤.

ومن الخواص المهمة لأي حمض ضعيف هو سلوكه كمادة منظمة Buffer حيث يقاوم المحلول المنظم التغيرات الملحوظة في تركيز أيونات الأيدروجين التي قد تنتج من إضافة أيونات الأيدروجين أو أيونات الأيدروكسيل، ويمكن فهم تأثير المحلول المنظم من منحنيات المعايرة titration curves للأحماض الضعيفة كما هو موضح في الشكل رقم (٣٥) الذي يبين التغير في الأس الأيدروجيني pH كنتيجة لإضافة أيونات الهيدروكسيل (OH^-) للمحاليل المائية لحمضين ضعيفين لهما قيمة ثابت الحموضة Ka هما ٤,٦، ٩,٣ على التوالي. وفي النقطة a يتفكك الحمض الضعيف (حمض خليك مثلاً) تفككاً ضعيفاً، وعندما تضاف أيونات أيدروكسيل إلى المحلول الحمضي HA تحدث التفاعل التالي:

$$HA + OH^- \leftrightarrow A^- + H_2O$$

مع انخفاض في تركيز الحمض [HA] وازدياد تركيز الملح [A^-] ويلاحظ في النقطة b يكون نصف الحمض قد تمت معايرته بحيث إن [A^-] = [HA] وفي النقطة c لا يكون هناك HA ولكن يوجد فقط [A^-]، ملح الحمض الضعيف.

ويبين منحنى المعايرة أن النظام يتصرف كمحلول منظم في pH حوالي ٤,٧ حيث تكون كميات مناسبة من أيونات الهيدروكسيل قد أضيفت للمحلول مع تغيرات ضعيفة في الأس الأيدروجيني pH.

وفي المنحنى (b) يعمل الحمض كمحلول منظم في pH حوالي ٩,٣. وهكذا فإن معايرة حمض ضعيف مع عدة محلول منظم نعمل على تكوين محلول يعبر عنه بأنه المحلول المنظم buffered solution ويكون تأثير المنظم أعلى في أس ثابت الحموضة pKa للحمض الضعيف حيث يكون [A^-] = [HA] ويجب أن يلاحظ أنه يمكن تحضير المحاليل المنظمة ليس

بمعايرة حمض ضعيف مع أيونات أيدروكسيل أو معايرة محلول من A مع H^+ ولكن أيضا يتم بإضافة A^- ملح حمض ضعيف إلى محلول الحمض.

ومن الممكن أن نربط التغير فى الأس الأيدروجينى pH إلى التغير فى [HA] , [A^-] كما يلى:

$$[H^+] = \frac{Ka\,[HA]}{[A^-]}$$

وإذا أخذنا سالب اللوغاريتم فى المعادلة السابقة نحصل على:

$$pH = pKa + Log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

ويمكـــن إعادة كتابة المعادلة السابقة لتعطى معادلة هندرسون هاسيل بالخ Henderson Hasslbalch equation كالآتى:

$$pH = pKa + Log \frac{[salt]}{[acid]}$$

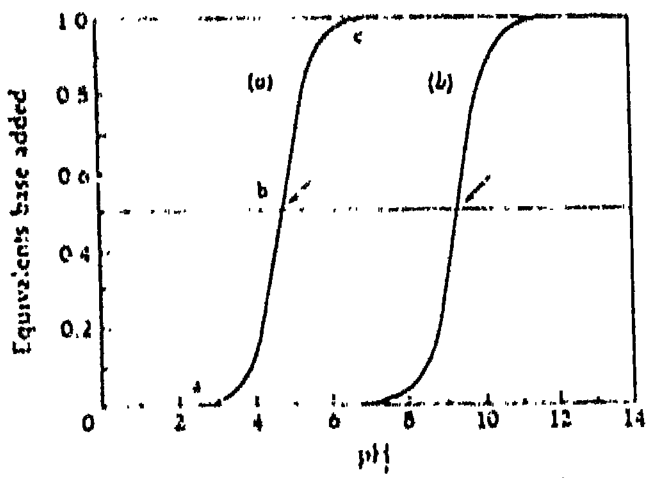
حــيث يدل تركيز الحمض [acid] وتركيز الملح [salt] على تركيز HA، -A (ملـــح الحمض الضعيف) على التوالى. وهكذا إذا كانت تركيز الحمض [acid] = تركيز الملح [salt] فى النظام المنظم buffer system فإن:

$$pH = pKa$$

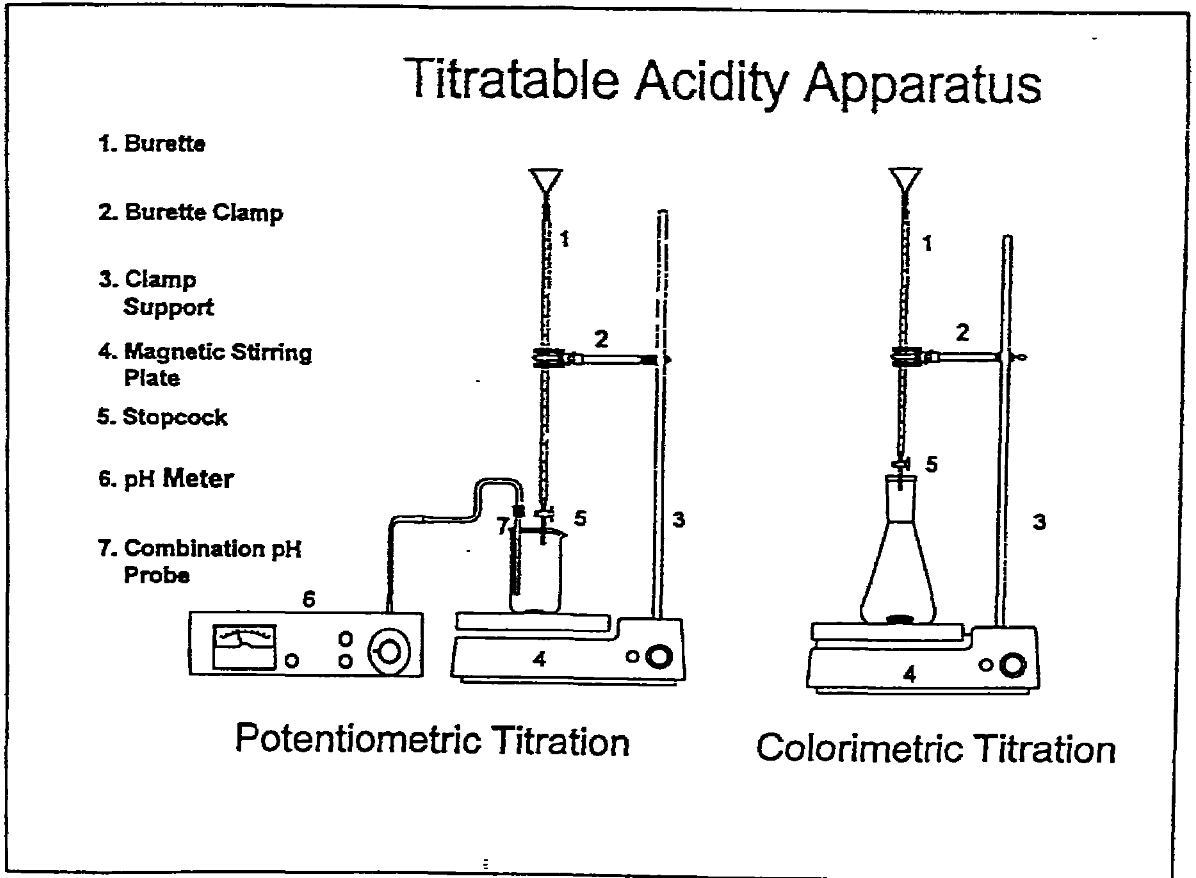
ويوضح الجدول رقم (٧٨) قيم ثابت الحموضة pKa لبعض المركبات المهمة.

جدول رقم (٧٨): قيم ثابت الحموضة pK_a لبعض المركبات المهمة ذات الفائدة البيولوجية

Compound	pK_a	Compound	pK_a
Phosphoric acid (pK_1)	2.0	Citric acid (pK_3)	6.6
Citric acid (pK_1)	3.1	Phosphoric acid (pK_2)	6.7
Formic acid	3.8	Imidazole	7.0
Lactic acid	3.9	Diethylbarbituric acid	8.0
Benzoic acid	4.2	Tris(hydroxylmethyl) aminomethane	8.1
Acetic acid	4.7	Boric acid	9.2
Citric acid (pK_2)	4.7	Ammonium ion	9.3
Pyridinium ion	5.3	Ethylammonium ion	9.8
Cacodylic acid	6.2	Triethylammonium ion	10.8
Maleic acid	6.2	Carbonic acid (pK_2)	10.4
Carbonic acid (pK_1)	6.3	Phosphoric acid (pK_3)	12.4
Oxalic acid	1.19	Potassium acid phthalate	5.4
Tartaric acid (pK_1)	3.02	Tartaric acid (pK_2)	4.54



شكل (٣٥): منحنيات المعايرة للأحماض الضعيفة .



شكل (٣٦): جهاز تقدير الحموضة التنقيطية

مثال (١):

احسب كمية كل من كربونات الصوديوم وبيكربونات الصوديوم اللازمة لتحضير ١٠٠ مل محلول منظم واحد مولر ورقم الـ pH له يساوى ٩,٥.

علما بأن: الوزن الجزيئى لكربونات الصوديوم = ١٠٦

الوزن الجزيئى لبيكربونات الصوديوم = ٨٤

قيمة الـ pKa للمحلول = ٩,٨

الحل:

$$pH = pKa + Log \frac{[salt]}{[acid]}$$

$$9.5 = 9.8 + Log \frac{[salt]}{[acid]}$$

$$Log \frac{[salt]}{[acid]} = -0.3 \ldots$$

.. قيمة antilog للقيمة $0.3 = 1.995$

كمية المذاب فى المحلول المنظم معبرا عنه جرام جزىء لكل لتر

$$= \frac{١٠٠}{١٠٠٠} \times ١ = ٠,١ \text{ جرام جزىء / لتر}$$

وإذا فرضنا أن تركيز بيكربونات الصوديوم (كحامض) هو (γ) فإن تركيز الكربونات (كملح للحامض) هو ٠,١ - γ.

$$\frac{[acid]}{[salt]} = 1.995 \ldots$$

$$\frac{\gamma}{0.1 - \gamma} = 1.995 \ldots$$

$$\gamma = 1.995\ (0.1 \quad \gamma) \ldots$$

$$\gamma = 0.1995 \quad 1.995\,\gamma$$

$$2.995\,\gamma = 0.1995$$

$$\gamma = \frac{0.1995}{2.995} = 0.0666$$

... تركيز البيكروبونات = 0.0666

تركيز الكربونات = 0.0334

... كمية البيكروبونات = 84 X 0.0666 = 5.5944 جرام

كمية الكربونات = 106 X 0.0334 = 3.5404 جرام

مثال (٢):

ما هو حجم حمض الأيدروكلوريك ١١,٧ عيارى ووزن الترس هيدروكسى ميثيل أمينو ميثان ذو الوزن الجزيئى ١٢١ (قاعدة) وذلك لتحضير ٥٠٠ مل من محلول منظم ٠,١ مولر ورقم الـ pH يساوى ٨ وقيمة الـ pKa = ٨ .

الحل:

$$pH = pKa + Log \frac{[BOH]}{[B^+]}$$

$$8 = 8 + Log \ldots \frac{[BOH]}{[B^+]}$$

$$\therefore 0 = \text{Log} \frac{[BOH]}{[B^+]}$$

$$\frac{[BOH]}{[B^+]} = 1$$

كمية المذاب فى المحلول المنظم = $\frac{٠,١ \times ٥٠٠}{١٠٠٠}$ = ٠,٠٥ جرام

نفرض أن كمية الجرام من القاعدة فى المحلول المنظم = γ

، كمية الجرام من الملح فى المحلول المنظم = ٠,٠٥ γ

$$\frac{Base}{salt} = \frac{\gamma}{0.05 - \gamma} = 1$$

$\gamma = 0.05 \quad \gamma$

$2\,\gamma = 0.05$

$$\gamma = \frac{0.05}{2} = 0.025 \text{ M}$$

فى حالة حمض الأيدروكلودريك:

فإن ح × ع = ح × ع

١١,٧ × ح = ٠,٠٢٥ × ١٠٠٠

ح = $\frac{٠,٠٢٥ \times ١٠٠٠}{١١,٧}$ = ٢,١٤ مل

وزن الترسب = ٠,٠١ × ١٢١ = ١,٢١ جرام

ويوضـــح الجدول رقم (٧٩) العلاقة بين قيم الـــ pH والكميات اللازم إضافتها من الحمض وملحه لتحضير المحلول المنظم.

جدول (٧٩): العلاقة بين قيم الـــ pH والكميات اللازم إضافتها من الحامض وملحه لتحضير البفر

بفر الخلات ٠,٢ مول			بفر الفوسفات ٠,١ مول		
PH	HOAC 1.014M (ML)	Na OAC 0.2M (ML)	PH	Na_2HPO_4 0.1M (MJ)	$NaHPO_4$ 0.1M (ML)
٣,٦	٣,٥٩	١,٨٥	٥,٧	١٨,٥	١,٥
٣,٧	٣,٥٠	٢,٢٥	٥,٨	١٨,٠	٢,٠
٣,٨	٣,٤٠	٢,٧٥	٥,٩	١٧,٧	٢,٣
٣,٩	٣,٢٥	٣,٥	٦,٠	١٧,٢	٢,٨
٤,٠	٣,١٤	٤,٥	٦,١	١٦,٦	٣,٤
٤,١	٢,٩	٤,٨٥	٦,٢	١٥,٩	٤,١
٤,٢	٢,٧٦	٦,٠	٦,٣	١٥,١	٤,٩
٦,٧	٤,٣	٢,٦٢	٦,٧٠	١٤,٣	٥,٧
٤,٤	٢,٤١	٧,٧٥	٦,٥	١٣,٣	٦,٧
٤,٥	٢,١٨	٨,٩	٦,٦	١٢,٢	٧,٨
٤,٧	١,٧	١١,١٥	٦,٨	١٠,٠	١,٠
٤,٨	١,٤٢	١٢,٣	٦,٩	٨,٨	١١,٢
٤,٩	١,٣	١٣,٣٥	٧,٠	٧,٧	١٢,٣
٥,٠	١,١١	١٤,٣٥	٧,١	٦,٦	١٣,٤
٥,١	٠,٩٤	١٥,٢٥	٧,٢	٥,٦٩	١٤,٣١
٥,٢	٠,٧٨	١٦,٠	٧,٣	٤,٨	١٥,٢
٥,٣	٠,٦٥	١٦,٧	٧,٤	٤,٠	١٦,٠
٥,٤	٠,٥٣	١٧,٣	٧,٥	٣,٣٠	١٦,٧
٥,٥	٠,٤٣	١٧,٧٦	٧,٦	٢,٧	١٧,٣
٥,٦	٠,٣٦	١٨,١٥	٧,١	٢,٢	١٧,٨
			٧,٨	١,٨	١٨,٢
			٧,٩	١,٥٨	١٨,٤٢
			٨	١,١٨	١٨,٨٢

استخدام الإنزيمات فى تحليل الأغذية

Application of Enzymes in Food Analysis

تعتبـــر الإنـــزيمات عوامل مساعدة حيوية بروتينية التركيب تفرزها الخلايـــا الحية النباتية أو الحيوانية وخلايا الكائنات الحية الدقيقة (بكتيريا فطر خميرة)، وتتميز الإنزيمات بعدة خواص وصفات يمكن إيجازها فيما يلى:

١- تعمـــل الإنـــزيمات على زيادة معدل أو سرعة تفاعل reaction rate or velocity كما أنها لا تظهر ولا تستهلك فى التفاعل.

٢- الإنـــزيمات علـــى درجـــة عالـــية من التخصصية specificity والحساســـية senstivety أى أن لكـــل إنزيم مادة متفاعلة معينة Substrate تؤثر عليها وتتفاعل معها دون غيرها.

٣- يتكون الإنزيم من جزء روتينى يسمى Apoenzyme وجزء آخر غيـــر بروتينـــى يسمى مرافق الإنزيم coenzyme أو ما يعرف بالمجموعة التعويضية prosthetic group.

٤- تســـتخدم الإنـــزيمات بتركيزات بسيطة لإجراء التفاعل ولا تتغير خواصها أثناء التفاعل.

٥- الإنـــزيم كعامـــل مســـاعد يودى إلى خفض مقدار طاقة التنشيط Activation Energy (E_a) اللازمة لكى يتم التفاعل.

٦- كثير من الإنزيمات يتطلب عملها وجود عوامل أو مركبات معينة لكى تنشط هذه الإنزيمات وقد يكون هذه المركبات المضافة عبارة عن أيونات المعادن وتسمى بالمنشطات activators.

٧- يتأثر نشاط الإنزيم بعدة عوامل هى:

أ تركيز الإنزيم نفسه Enzyme concentration.

ب- تركيز المادة المتفاعلة Substrate concentration.

ج درجة الحرارة Temperature.

د حموضة الوسط pH value.

هـ-العوامل المنشطة Activators والمثبطة Inhibitors.

جدول (٨٠): تأثير فعل النشاط الإنزيمى على مقدار طاقة التنشيط

التفاعل	العامل المساعد	طاقة التنشيط كيلوجول / مول
١- يد٢أ٢ ← يد٢أ + ١/٢أ٢	فى عدم وجود عامل مساعد	٧٥
	باستخدام انزيم catalase	٢٦,٨
٢- كازين ← (تحلل مائى) ببتيدات	فى وجود بروتونات	٨٦
	باستخدام انزيم Trypsin	٥٠
٣-ايثيل بيروترات ← (تحلل) حمض بيوتريك + ايثانول	فى وجود بروتونات	٥٥
	باستخدام انزيم lipase	١٧,٦
٤-سكروز ← (تحليل) جلوكوز + فراكتوز	فى وجود بروتونات	١٠٧
	باستخدام انزيم invertase	٤٦
٥-حمض ليوليك ← (اكسدة) هيدرويدوكسيد	فى وجود أيونات نحاس	٣٠-٥٠
	باستخدام انزيم lipoxygenase	١٦,٧

وكمـــا ذكـــر فإن التفاعلات الإنزيمية تجرى فى مدى حموضة لوسط الـــتفاعل ولكـــن لكـــل إنـــزيم رقـــم حموضة pH أمثل لتفاعله ونشاطه، وبالانحـــراف عـــن هـــذه القيمة يقل درجة النشاط الإنزيمى والجدول (٨١) يوضـــح أمـــثلة لقيم رقم الحموضة الأمثل Optimum pH values لبعض الإنزيمات.

جدول (٨١): قيم رقم الحموضة pH الأمثل لبعض الإنزيمات

الإنزيم	المصدر الإنزيمى	مادة التفاعل	رقم الحموضة الأمثل
Pepsin	المعدة	البروتين	٢
Chymotrpsin	بنكرياس	البروتين	٧,٨
Popain	نباتى	البروتين	٧ ٨
Lipase	ميكروبى	زيت زيتون	٥ ٨
α glucosidase (maltase)	ميكروبى	مالتوز	٦,٦
B-amylase	مولت	نشا	٥,٢
B-fructo furano sidase (invertase)	طماطم	سكروز	٤,٥
Pectin lyase	ميكروبى	حمض بكتيك	٩,٢ ٩
Xanthine oxidase	اللبن	زانثين	٨,٣
Lipoxygenase	فول صويا	حمض لينوليك	٩

وتعتبر المعاملات الحرارية من العوامل المهمة فى تصنيع وتخزين الأغذية ومنتجاتها حيث إنها تتحكم فى التغيرات الكيميائية والإنزيمية والميكروبيولوجية، حيث يمكن وقف التغيرات غير المرغوبة أو تأخيرها وذلك بتبريد الأغذية أو تخزينها على درجة حرارة منخفضة، كذلك فإن الحرارة المرتفعة مثل البسترة تؤدى إلى تثبيط النشاط الإنزيمى وتوقف التغيرات غير المرغوبة الناشئة عنها أو عن الميكروبات، ولهذا فإن درجة الحرارة والوقت اللازم للمعاملة الحرارية يعتبران من العوامل المحددة لتأثير هذه المعاملات على جودة المنتج الغذائى.

والجدول رقم (٨٢) يوضح أمثلة لتدهور خواص الجودة نتيجة النشاط الإنزيمى والتى يمكن تلافيها بالمعاملات الحرارية أو التثبيط الحرارى.

جدول رقم (٨٢): التنشيط الحراري وعلاقته بمنع تدهور الجودة في الأغذية

المنتج الغذائي	الإنزيم	نوع التدهور في الجودة
منتجات البطاطس والتفاح	Monophenol oxidase	التلون الانزيمي
بسلة غير تامة النضج	Lipoxygenase peroxidase	نكهة غير مرغوبة
منتجات اسماك	Proteinase	غيوب في القوام
	Thiaminase	فقد في فيتامين ب١
عجائن الطماطم	Polygalactouronase	عيوب في القوام
منتجات مشمش	B-glucosidase	عيوب في اللون
رقائق شوفان	Lipase	نكهة غير مرغوبة
	Lipoxygenase	طعم مر
خس وكرنب	Cystathionne B-lyase	نكهة غير مرغوبة

٨- يـتفاعل الإنزيم (E) مع المادة المتفاعلة (S) مكونا مركباً معقداً مـن الإنـزيم والمـادة المـتفاعلة Enzyme substrate complex (ES) ويكـون ذلك سريعا ولا يرى فى أثناء التفاعل وتسـمى هـذه المرحلة على منحنى التفاعل بـ pre steady state period. والمرحلة التى تلى ذلك والمعبر عنها بعلاقة خط مسـتقيم تعطـى السـرعة الابتدائـية للتفاعل الإنزيمى initial velocity (Vo)، ويصـل التفاعل إلى مرحلة الثبات فى تكوين المـركب المعقد (ES) وكما سبق فإن معدل التفاعل الانزيمى هنا يعـتمد على العوامل السابق الإشارة إليها. وتصل سرعة التفاعل أقصـاها Vmax لتكوين الناتج النهائى. وتتناول المراجع العلمية الحـركيات التـى تحـدث فـى التفاعلات الإنزيمية والمعاملات الرياضية التى تعبر عن هذه الحركيات.

٩- الجـــدول (٨٣) يوضـــح التقسيم العام للإنزيمات وأنواعها والفعل التأثيرى لهذه الإنزيمات.

١٠- تـــوجد عـــدة طرق لتقدير النشاط الإنزيمى Enzyme activity والتفاعلات الإنزيمية نوجزها فيما يلى:

أ طرق اسبكتروفوتومترية	Spectrophotometvic
ب- طرق مانومترية	Mano metric
ج- طرق فلورمترية	Fluorimetric
د طرق المعايرة	Titration
هـــ-تقدير اللزوجة	Viscosity
و استخدام الالكترود	Enzyme electrodemethod
س- طرق بولاريمترية	Polarimetvic
ح طرق كروماتوجرافية	Chromato grophic

وجديـــر بالذكر فإن قيمة وأهمية طريقة التحليل المستخدمة تزداد كلما كانت هذه الطريقة متخصصة وعالية الحساسية وسهلة الإجراء ولا تستغرق وقـــتا طويلاً مع انخفاض التكلفة المعملية، وهذه المميزات تتوافر فى الطرق الإنـــزيمية، ولقد استخدمت الإنزيمات كأسلوب لتحليل الأغذية ومنتجاتها بعد نجـــاح اســـتعمالها وتطبيقها فى عمليات التصنيع الغذائى، ونظرا لتخصص الإنـــزيمات فإن هذا التخصص قد يرتبط بنوع مادة التفاعل فيسمى فى هذه الحالـــة Substrate specificity وقـــد يرتبط بنوع التفاعل أو النشاط ذاته فيسمى reaction specificity، وكمثال على تخصص الإنزيم بالنسبة لمادة الـــتفاعل substrate فلإن الجدول رقم (٨٤) يوضح درجة النشاط الإنزيمى كنســـبة مـــئوية لإنـــزيم α glucosidase فـــى البقوليات وإنزيم acyl hydrase فى البطاطس.

جدول رقم (٨٣): تقسيم وعمل الإنزيمات المستخدمة في مجال تحليل الأغذية

الفعل التأثيري	أمثلة لأنواع الإنزيمات	نوع الإنزيم
الإنزيمات المحللة **Hydrolyzing**		
[illegible] protease	[illegible] trypsin [illegible] pepsin	[illegible] CO NH
[illegible] peptidase [illegible] carbohydrase	[illegible] papain [illegible] rennin; [illegible] α & β amylase [illegible]; invertase [illegible] amyloglucosidase; cellulase [illegible] maltase [illegible]	[illegible]
[illegible] Esterase	[illegible] lipases; [illegible] cholinesterase; [illegible] pectin esterase; [illegible] phytase [illegible] phosphatase; [illegible] deaminase [illegible] arginase; [illegible] urease	[illegible]
تفاعلات الإضافة **Adding** إنزيمات [illegible] Hydrolyase	[illegible] fumarase; [illegible] glyoxalase; [illegible] Enolase	[illegible]
[illegible] carboxylase [illegible] thiamin phospholase	[illegible] amino acid decarboxylase [illegible]; [illegible] pyruvic oxidase [illegible] للأحماض [illegible]	[illegible]
تفاعلات النقل **Transferring**		[illegible]
[illegible] oxidoreductase	[illegible] amino acid oxidase; [illegible] amino acid [illegible]; peroxidase [illegible] dehydrogenase; [illegible] catalase [illegible]	
[illegible] transaminase	glutamate trans[illegible]; glycine [illegible] aminase transferase	[illegible]

تابع جدول رقم (٨٣): تقسيم وعمل الإنزيمات المستخدمة في مجال تحليل الأغذية

الفعل التأثيري	أمثلة لأنواع الإنزيمات	نوع الإنزيم
فوسفوترانس فيريز phospho-transferase	هكسوكنيز hexokinase، جلوكوكينيز glucokinase، فراكتوكينيز fructokinase	نقل مجاميع الفوسفات
ترانس اميليز transacylase	امينو اسيد فرانس سيليز amino acid trans acylase، كولين ترانس اسيليز cholin trans acylase	نقل مجاميع الاسيل
ترانس جليكوسيليز transglycocylase	دكسترين ترانس جليكوسيليز Dextrin transglycosylase	نقل مجاميع الجليكوسيل
كو انزيم ترانسيز COA transferase	كو انزيم ا ترانس فيزيز COA transferase	نقل مرافق إنزيم أ
ترانس ميثيليز Trans methylase	نيكوتاميد ترانس ميليز Nicotinamide trans methylase	نقل مجاميع الميثيل
انزيمات التشابه **Isomerizing**		
السيوميرز Isomerase	الانين راسيميز alanine recemase لاكتات اسيميز lactate recemase	تحويل الصور الفراغية
ديهيدريز Dehydrase	فيوماريز Fumarase، الدوليز alddase ستريز citrase	إضافة مجاميع للروابط الزوجية
إنزيمات التخليق synthetase	جلوتامين سينثيز glutamine synthetase	يدخل في تفاعلات التخليل الحيوية

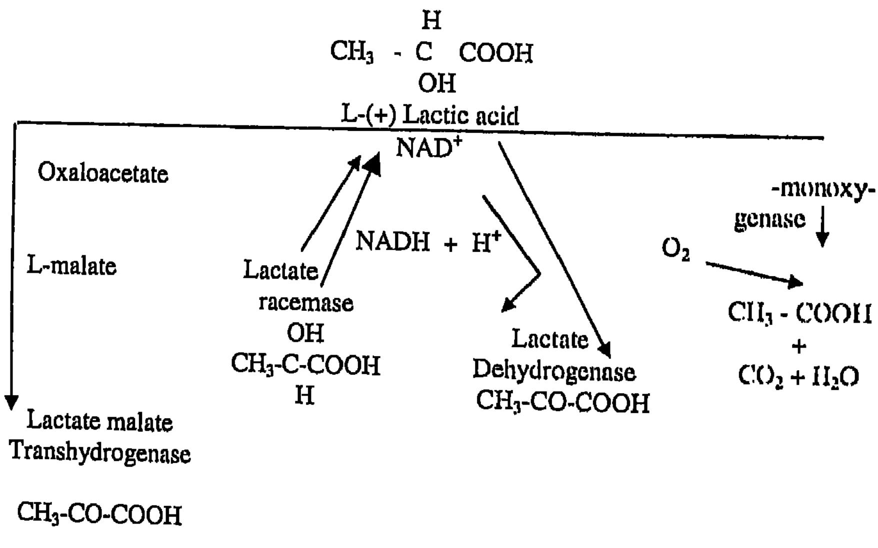
جدول (٨٤): درجة النشاط الإنزيمي (%) بالنسبة لنوع مادة التفاعل

الإنزيم	مادة التفاعل	درجة النشاط النسبي (%)
A glucosidase	مالتوز	١٠٠
	ايسو مالتوز	٤
	مالتوتراىوز	٤١,٩
	اميلوز	٣٠,٩
	اميلوبكتين	٤,٤
	سليلوبيوز	صفر
	فينيل الفاجلوكوسيد	٣,١
	سكروز	صفر
Acyl hydrasp	مونو اولين	١٠٠
	داى اولين	٢١
	ترااى اولين	صفر
	ميثل اولييت	٢٨
	ليسثين	٧٢
	ليسثين	١٣

وتتضح أهمية الإنزيمات ذات التخصصية العالية لمادة التفاعل فى استخدامها كأداة لتحليل مكونات المادة الغذائية لتقدير و الكشف عن عناصر غذائية معينة.

وكمـــثال علـــى تخصص الإنزيم فى نشاطه تبعا لمصدر الإنزيم فان إنـــزيم الليبيـــز Lipase المســـتخلص مـــن البنكـــرياس أو اللبن أو بكتريا pesudomonas fragi أو فطـــر P. roqueforti يحلـــل مجاميع الاستيل acyl groups فـــى المواضع ١، ٣ على الترأى جليرسيد بينما إنزيم الليبيز Li.pase المســـتخلص من الشوفان Oat أو بذور الخروع Castor beans أو فطر A.flavus يحلل مجاميع الاسيل فى المواضع ١، ٢، ٣ على الترأى جليســـريد، أما إنزيم الليبيز L.pase المستخلص من جنس Geotrichum candidum فهـــو يحلل الأحماض الدهنية الأوليك Oleic acid والليثوليك lyinoleic acid فى المواضع ١، ٢، ٣ على الترأى جليسريد أيضا.

وكمـــثال على تخصص الإنزيم تبعا لنوعه ولتأثيره على مادة التفاعل فـــإن هـــناك مجمعـــة إنزيمات يمكن أن تعمل على مادة تفاعل واحدة ولكن تختلف نواتج التفاعل تبعا لنوع الإنزيم المستخلص كما فى الشكل التالى:



حيث يمكن استخدام انزيم معين لتحليل وتقدير مكون معين فى المادة الغذائية دون التداخل مع اى مكونات أخرى بعكس الطرق التحليلية الأخرى غير الإنزيمية والتى تعتبر طرق عامة، كذلك فإن وزن أو كمية العينة المختبرة التي يتطلبها التفاعل الإنزيمي تكون صغيرة.

وهناك بعض القيود أو المحددات عند استخدام الإنزيمات فى الكيمياء التحليلية تتلخص في الالتزام الدقيق لظروف التحليل والتفاعل الإنزيمي ومراعاة الدقة في عدم حدوث أى تلوث فى أثناء التفاعل أو التقدير حتى لا يؤدى إلى تثبيط نشاط الإنزيم كما أن المعادن الثقيلة والعوامل المؤكسدة يؤثر على نتائج التحليل وبالإضافة الى ذلك فإن أى مركبات تتشابه تركيبيا مع الإنزيم تكون ذات تأثير تثبيطي تنافسى مع الإنزيم ويجب مراعاة أكثر المعاملات التى تجرى على المادة الغذائية تؤثر على نشاط الإنزيم. ويمكن تقليل التكلفة المرتفعة نسبيا لاستخدام المستحضرات الإنزيمية النقية وذلك باستعمال الإنزيمات المحملة immobilized enzymes التى تعمل على الإسراع من نشاط الإنزيم وتسهيل الارتباط بالمادة العضوية، كذلك زيادة فترة النشاط مع إمكانية استخدام الإنزيم أكثر من مرة وهذه الإنزيمات المحملة سهلة التحضير، كما توجد عدة طرق للتحميل مثل الادمصاص adsorption والارتباط التساهمى والتغليف الرقيق أو عمل الكبسولات.

ولقد استخدمت طريقة التحليل الإنزيمي بواسطة الكترود الإنزيم enzyme electrode والتى تحتوى على جزء حساس كهروكيميائى electrochemical sensor وغشاء شبه منفذ وطبقة وسطية تحتوى على الإنزيم ويعتمد درجة الإحساس بالتفاعل على درجة انتشار المادة المتفاعلة خلال الغشاء وتتناول المراجع العلمية هذا الموضوع بالتفصيل.

وتجدر الإشارة الى أن قابلية الإنزيمات البروتينية لتحليل الروابط الببتيدية المتكونة بأحماض أمينية معينة تعطى هذه الإنزيمات خواص متعددة كعوامل تحليلية، وبصفة عامة فان الإنزيمات البروتينية لها مدى واسع من المواد المتفاعلة التى يمكن أن تعمل عليها، ومن الضرورى لتحليل البروتينات استخدام مخلوط من الإنزيمات البروتينية المختلفة.

ويمكـــن تقديـــر محـــتوى العينة المختبرة من الأميدات باستخدام نظام إنزيمـــى يحلل الروابط الببتيدية دون التأثير على النتروجين الأميدى، كذلك عـــندما تتأثـــر الفيتامينات بالمعاملات الكيماوية فانه يفضل استخدام الطرق الإنـــزيمية فـــى تقديـــرها كما فى حالة تقدير حمض الفوليك Folic acid وحمض البانثويك Pantothenic acid.

ونظـــرا للتخصص الإنزيمى أيضا فانه يستفاد من ذلك فى الدراسات التـــركيبية Structural studies وعلـــى سبيل المثال فإن إنزيمات الليبيز lipases المستخلصـــة مـــن مصادر متعددة تختلف فى تحليل الجليسريدات والفوســـفوليبيدات فـــى الجـــزىء حـــيث يقـــوم إنـــزيم الليبيز البنكرياسى Pancreatic lipase بتحليل الرابطة فى الموضع ١، ٣ فى جزىء الترأى جليسرين ويكون المونوجليسريد المتحصل عليه يحتوى على الحمض الدهنى فـــى الموضـــع بيتا أى ذرة الكربون الثانية على الجليسرول، كما يستفاد من الإنزيمات فى التمييز بين نوعية الأحماض الدهنية المختلفة سواء فى درجة التشـــبع أو عدم التشبع أو طول السلسلة الكربونية هل هى قصيرة أو طويلة أو التمييز فى الوضع الفراغى.

الاستخدامات المختلفة للتحليلات الإنزيمية فى مجال الأغذية

١- تقدير النشاط الإنزيمى enzyme activity فى المادة الغذائية.
٢- تقدير محتوى المادة المتفاعلة Substrate content.
٣- تقدير العوامل المنشطة activators والمثبطة Inhibitors.
٤- تقديـــر المـــركبات ذات الجـــزيئات المعقـــدة (الكربوهيدرات البـــروتينات الأحمـــاض الـــنووية الليبـــيدات الألياف الفيتامينات).
٥- تقدير التوكسينات Toxins.
٦- تقدير الأحماض العضوية والكحولات والأحماض الأمينية.
٧- تقديـــر المبيدات الحشرية insecticides وبقاياها residues فى الأغذية.
٨- تقدير الحمل الميكروبى.

٩- تقدير نواتج الهدم مثل مركبات التراى ميثيل أمين Trimedthylamine فى الأسماك خلال التخزين.

١٠-يستخدم النشاط الإنزيمى كدلالة على كفاءة المعاملات الحرارية مثل السلق blanching والبسترة pasteurization.

١١-يستخدم النشاط الإنزيمى كدلالة على جودة المنتج الغذائى.

١٢-الكشف عن التزريع والإنبات فى الحبوب وضبط الجودة فى صناعة المولت.

١٣-كشف الغش فى العسل.

١٤-يستفاد من الإنزيمات فى الدراسات التركيبية للعناصر الغذائية.

والجدول رقم (٨٥) يوضح أهمية الإنزيمات فى مجال التصنيع الغذائى.

وفيما يلى بعض الأمثلة لتطبيقات الإنزيمات فى تحليل الأغذية:

١- يستخدم مخلوط إنزيمى جلوكوز أكسيديز glucose oxidase والبيروكسيديز peroxidase لتقدير محتوى المادة الغذائية من الجلوكوز glucose حيث يقوم الإنزيم الأول بأكسدة سكر الجلوكوز لينتج الجلوكونولاكتون gluconolactone وفوق أكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide ثم يقوم إنزيم البيروكسيديز بتحليل فوق أكسيد الهدروجين وفى وجود صبغة اورثو داى انسدين O- diansidine منتجا ماء وتتأكسد الصبغة متحولة الى اللون الأصفر وتقدر الكثافة الضوئية Optical (O.D.) density على طول موجة ٤٢٠ نانوميتر والمعادلات التالية توضح التفاعلات السابقة:

$$\text{B-D- glucose} + O_2 \xrightarrow{\text{glucose oxidase}} \text{D- gluconolactone} + H_2O_2$$

$$\underset{\text{(colorless)}}{H_2O_2 + \text{O- diansidine}} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \underset{\text{(yellow color)}}{H_2O + \text{Oxidized dye}}$$

جدول (٨٥): بعض استخدامات الانزيمات في تحليل المكونات الغذائية

Examples of enzymatic analysis of food constituents[a]

Constituent	Auxiliary reaction	Indicator reaction
Glucose	β-D-Glucose[b] + O_2 $\xrightleftharpoons[\text{oxidase}]{\text{Glucose}}$ δ-D-Gluconolactone + H_2O_2 (a_0)	o-Dianisidine + H_2O_2 $\xrightleftharpoons{\text{Peroxidase}}$ Oxid. o-dianisidine (a_1)
	Glucose + ATP $\xrightleftharpoons[\text{kinase}]{\text{Hexo-}}$ Glucose-6P (b_0)	Glucose-6P + $NADP^+$ $\xrightleftharpoons[\text{dehydrogenase}]{\text{Glucose-6P}}$ Gluconate-6P + NADPH + H^+ (b_1)
Fructose	Fructose + ATP $\xrightleftharpoons[\text{kinase}]{\text{Hexo-}}$ Fructose-6P	
	Fructose-6P $\xrightleftharpoons[\text{isomerase}]{\text{Glucosephosphate}}$ Glucose-6P	As glucose-6P (b_1)
Sorbitol	D-Sorbitol + NAD $\xrightleftharpoons[\text{drogenase}]{\text{Sorbitol dehy-}}$ Fructose + NADH + H^+	
Maltose	Maltose + H_2O $\xrightleftharpoons{\alpha\text{-Glucosidase}}$ 2 Glucose	As glucose (b_0 + b_1)
Starch	Starch + (n − 1) H_2O $\xrightleftharpoons[\text{glucosidase}]{\text{Amylo-}}$ n-Glucose	As glucose (b_0 + b_1)
Galactose	β-D-Galactose + NAD^+ $\xrightleftharpoons[\text{dehydrogenase}]{\text{Galactose}}$ D-Galactono-γ-lactone + NADH + H^+	
Ethanol	Ethanol + NAD^+ $\xrightleftharpoons[\text{dehydrogenase}]{\text{Alcohol}}$ Acetaldehyde + NADH + H^+	
Glycerol	Glycerol + ATP $\xrightleftharpoons[\text{kinase}]{\text{Glycerol}}$ sn-Glycerol-3P + ATP	ADP + Phosphoenolpyruvate $\xrightleftharpoons[\text{kinase}]{\text{Pyruvate}}$ ATP + Pyruvate (c)
		Pyruvate + NADH + H^+ $\xrightleftharpoons[\text{dehydrogenase}]{\text{Lactate}}$ Lactate + NAD^+ (d)
Lactate	L-Lactate assay is achieved by a reversed reaction of d), and D-lactate assay with a dehydrogenase specific for D-enantiomer.	
Creatinine and Creatine	Creatinine + H_2O $\xrightleftharpoons{\text{Creatininase}}$ Creatine	
	Creatine + ATP $\xrightleftharpoons[\text{kinase}]{\text{Creatine}}$ Creatine-P + ADP; ADP is determined through c) and d)	
Individual amino acids	R-CH(NH_2)COOH $\xrightleftharpoons[\text{decarboxylase}^d]{\text{Amino acid}}$ R-CH_2-NH_2 + CO_2	
L-Malate	L-Malate + NAD^+ $\xrightleftharpoons[\text{dehydrogenase}]{\text{Malate}}$ Oxalacetate + NADH + H^+	

[a] For saccharose and lactose see Fig. 2.41.
[b] The content of α-anomeric form is accessible through mutarotation.
[c] After hydrolysis this method is suitable for the assay of acylglycerols
[d] Specific decarboxylases are availabe as exemplified by those for L-tyrosine, L-lysine, L-glutamic acid, L-aspartic acid, or L-arginine

وهناك علاقة بين شدة اللون المتكون من أكسدة الصبغة وكمية الجلوكوز في العينة المختبرة، ونظراً لأن إنزيم الجلوكوز أوكسيديز متخصص للجلوكوز فإنه يستفاد من هذا الإنزيم في تقدير سكر الجلوكوز حتى في وجود أنواع سكريات مختزلة أخرى بالعينة.

٢- يستخدم إنزيم الأميلوجلوكوسيديز amyloglucosidase لتقدير النشا Starch والدكستربن Dextrin حيث يقوم الإنزيم بتحليل الرابطة الجليكوسيدية ألفا ١ ◄ ٤، ألفا ١ ◄ ٦ في النشا والجليكوجين والدكسترين منتجا جلوكوز وبالتالي يمكن تقدير الجلوكوز إنزيميا كما سبق بواسطة إنزيمي glucose oxidase ، peroxidase وتقدير اللون بالطرق الاسبكتروفوتومترية أو يمكن تقدير الجلوكوز باستخدام إنزيم الهكسوكينيز Hexokinase (HK) وإنزيم جلوكوز ٦ فوسفات ديهيدروجينيز glucose - 6 - phosphate dehydrogenase (G6 PDH) كما هو موضح بالمعادلات التالية:

$$\text{Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{glucose-6-phosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{Glucose-6-phosphate} + \text{NADP}^{+} \xrightarrow{\text{G6PDH}} \text{6-phosphogluconate} + \text{NADPH} + \text{H}^{+}$$

وتقدر كمية $NADPH^{+}$ المتكونة بقياس الامتصاص الضوئي على طول موجة ٣٤٠ نانومترا وبالتالي فإن كمية النشا أو الدكسترين يمكن تقديرها بمعادلات رياضية خاصة.

وتستخدم هذه الطريقة في تقدير الدكسترين في شراب الذرة المستعمل في تحلية عصائر الفاكهة، كذلك يمكن تقدير اللاكتوز (بعد تحليله إنزيميا بإنزيم بيتا جلاكتوسيديز β galactosidase) والسكروز (بعد تحليله بواسطة إنزيم الانفرتيز invertase) ثم إضافة إنزيمي HK ، G6PDH.

٣- يستخدم إنزيم ديكربوكسيل مالات ديهيدروجينيز D- Decarboxyl malate dehydrogenase (DMD) للكشف عن الصورة D لحمض الماليك في عصائر التفاح حيث توجد الصورة L في الطبيعة بينما لا توجد الصورة D طبيعيا، والمستحضرات الصناعية تحتوى على الصورتين وبالتالى يمكن الكشف عن الصورة D حيث إن ذلك يخالف المواصفات القياسية ومن ثم يمكن التأكد من استخدام مستحضرات حمض الماليك من عدمه.

$$\text{D-malic acid} + NAD^+ \xrightarrow{\text{DMD}} \text{pyruvate} + CO_2 + H^+ + NADH^+$$

٤- يستخدم إنزيم البيروكسيديز peroxidase في تقدير كفاءة المعاملات الحرارية مثل السلق Blanching وذلك باختبار العينة الغذائية فى وجود فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 وصبغة الجواياكول guaiacol (عديمة اللون) حيث تتأكسد في وجود الإنزيم الى تترلجواياكول tetraguaiacol ذات اللون الأصفر البنى yellow brown ويقدر الامتصاص اللونى على طول موجة ٤٥٠ نانومتر حيث تكون المعاملة الحرارية غير ذات كفاءة إذا حدث تفاعل إنزيمى وتكونت أنبوبة العينة المختبرة.

$$H_2O_2 + \text{guaiacol (colorless)} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{tetraguaiacol (colored)} + H_2O$$

٥- يستخدم إنزيم الليبوكسوجينز Lipoxygenase في تقدير مدى كفاءة عملية السلق للخضروات حيث وجد أن تقدير نشاط هذا الإنزيم في الخضراوات السابقة معاملتها حراريا بالسلق يدل على عدم كفاءة هذه العملية.

٦-يستخدم إنزيم الفوسفاتيز القاعدى alkaline phosphatase في تقدير كفاءة المعاملات الحرارية في اللبن مثل البسترة pasteurization حيث أن هذا الإنزيم يتميز بثباته الحرارى فى اللبن بدرجة أكبر من الميكروبات المرضية غير المتجرثمة التى توجد فى اللبن وبالتالى فإن النتيجة السلبية لاختبار الإنزيم يدل على كفاءة المعاملة الحرارية للبن. كما يكشف عن مدى التلوث أو إضافة لبن خام الى اللبن المبستر.

ويعتمد اختبار الفوسفاتيز على تحليل الإنزيم لمادة داى صوديوم فينيل فوســفات Disodium phenyl phosphate منتجا الفينول phenol ويقدر الأخيــر بالطــرق اللونــية بعد تفاعله مع صبغة 2,6 dichloro quino chloramide مكــونا صــبغة الاندوفينول الزرقاء حيث تستخلص بمذيب بيوثانول وتقدر كثافة اللون على طول موجى ٦٥٠ نانومتراً.

٧- يســتخدم إنزيم الانفرتيز invertase والمليبياز Melibiase فى تقدير كمية سكر الرافينوز Raffinose (سكر ثلاثى يتكون من الجلوكوز، الجلاكــتوز والفــراكتوز) ويــوجد فى بنجر السكر وعصير البنجر وسكر البنجــر الخــام والشــراب المحتوى على مولاس بنجر السكر ويقوم إنزيم الانفرتيــز بتحليل الرابطة الجليكوزيدية مع سكر الفراكتوز منتجا المليبيوز Melibiose والفــراكتوز Fructose ثم يقوم إنزيم المليبياز بتحليل الرابطة بــين الجلوكــوز والجلاكــتوز، وتقدر الكثافة الضوئية O.D. قبل عمليات التحلــيل الإنزيمية وبعد عمل إنزيم الانفرتيز وبعد عمل إنزيم المليبياز حيث يعبر التغير فى قيمة الدوران الضوئى عن كمية الرافينوز.

٨- يستخدم إنزيم السليلولاز Cellulase فى تقدير كمية السليلوز فى المــادة الغذائية وذلك فى وجود مخلوط من داى كرومات وحمض الكبريتيك كمخلــوط هضم ويقاس كثافة اللون المتكون على طول موجة ٤٣٠ نانومتراً والفــرق بــين قــيمة الـــ O.D. فى العينة المقارنة (الكونترول) والعينة المختبرة تتناسب مع كمية السليلوز المتحللة بواسطة الإنزيم.

٩- يســتخدم إنزيم جليسروكينيز Glycerokinase فى وجود ATP لفسفرة الجليسرول ليعطى L-glycerol 1-phosphate ويتأكسد الأخير بواســطة إنزيم glycerol 1-phosphate dehydro genose فى وجود NAD مكــونا داى هيدروكســى أســيتون فوسفات dihydroxy aceton hosphate ومــركب NADH وتتناســب كمــية الــــ NADH مع كمية الجليسرول فى العينة المختبرة.

١٠- يســتخدم إنــزيم L-amino acid decarboylase فــى تقدير الأحمــاض الأمينية حيث ينفرد غاز ثانى أكسيد الكربون الذى يمكن تقديره

بالطرق المانومترية ويستخدم هذا الإنزيم فى تقدير الأحماض الأمينية ليسين تيروسين هستيدين حمض الاستارتيك حمض الجلوتاميك الجلوتامين، بيتا هيدروكسى جلوتاميك، الفينل الانين الفالين ليوسين، كما يستخدم هذا الإنزيم فى التمييز بين الصور الفراغية للأحماض الأمينية L , D حيث يقوم الأنزيم بمهاجمة وتحليل الصور (L) للأحماض الأمينية ولايتفاعل مع الصورة (D).

١١- يستخدم إنزيم اليورييز Urease فى تقدير اليوريا حيث يقوم الإنزيم بتحليل اليوريا الى غاز ثانى أكسيد الكربون وأمونيا:

$$NH_2 \quad CO \quad NH_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Urease}} NH_3 + CO_2$$

ويمكن تقدير كمية غاز ثانى أكسيد الكربون بالطرق المانومترية gaso metrically بينما تقدر الأمونيا بطرق المعايرة titration أو بالطرق الكلريمترية Colorimetrica بواسطة محلول نسلر.

١٢- يستخدم إنزيم الليثيسنيز Lecithinase لتقدير كمية الليستين.

$$\text{Lecithin} + H_2O \xrightarrow{\text{Lecithinase}} \text{phosphatidic acid} + \text{choline}$$

وبعد عملية التحليل الإنزيمى يمكن فصل حمض الفوسفاتيديل (يذوب فى الإثير) عن الكولين (يذوب المحاليل المائية) وتذاب طبقة الكولين فى الأسيتون ويقدر كثافة اللون على طول موجة ٥٢٠ نانوميترا.

١٣- يستخدم إنزيم الكولين استريز Choline esterase فى تقدير تركيز المبيدات الحشرية وبقاياها فى الأغذية ومنتجاتها. حيث تعتمد طرق تقدير المبيدات إنزيميا على خاصة تفاعل المثبط مع الإنزيم حيث تؤدى المبيدات الفوسفورية إلى تثبيط الإنزيم فى الخلايا الحيوانية والحشرات ويؤدى إلى خفض معدل التفاعل ويقل خطيا مع زيادة تركيز المثبط (المبيد) ويمكن تقسيم الطرق الإنزيمية لتقدير المبيدات الفوسفورية إلى طرق كهربية electrometic

طـــريق معايـــرة titrimetric وطرق مانومترية manometric طرق حرارية Calorimetry.

ولقـــد أوضح Giang & Hall عام ١٩٥١ طرقة لتقدير كمية المبيد اعـــتمادا علـــى التغير فى رقم الحموضة حيث يتم استخلاص العينة بمذيب عضـــوى، ثم يبخر المذيب ثم يضاف إنزيم الكولين استريز إلى المتبقى لمدة ٣٠ دقـــيقة فى وجود محلول منظم وفى نهاية فترة التثبيط يضاف كمية من الاستيل كولين إلى مخلوط التفاعل وبعد ٦٠ دقيقة ينتج حمض الأستيك نتيجة تحلـــيل الاســـتيل كولين ويقدر التغير فى رقم الحموضة، وكلما زادت كمية حمض الاستيك المنتجة فى التفاعل دل ذلك على انخفاض درجة تثبيط إنزيم الكولين استريز مما يدل على انخفاض تركيز المبيد فى العينة المختبرة.

كما يمكن تقدير الكميات أو التركيزات الصغيرة من الـــ DDT بتقدير درجة الفعل التثبيطى لإنزيم الكرونيك انهيدريز Carbonic anhydrase.

الأهمية التكنولوجية للإنزيمات فى مجال تصنيع الأغذية

١- α - amylase

أ تحويل النشا إلى دكسترين عند إنتاج شراب الذرة.

ب- تدعـــيم أنـــواع الدقـــيق المنخفضة فى هذا الإنزيم لتحليل المواد الكـــربوهيدراتية لإنـــتاج سكر قابل للتخمر مما يساعد على إنتاج الغاز عند عمل العجائن.

ج المساعدة فى تحليل المواد المستخدمة فى عمليات التخمر وجعلها قابلة للذوبان.

٢- Glucoamylase

أ تحـــويل الدكســـترين إلـــى جلوكـــوز (عملـــية تســـكير Saccharification) عند إنتاج شراب الذرة.

ب- تحويل الدكسترين المتبقى إلى سكر قابل للتخمر عند إنتاج البيرة الهادئة Light beer.

٣- B - amylase

يستخدم فى إنتاج شراب المالتوز المرتفع Highmaltose syrup.

٤- Glucose isomerase

تحـويل الجلوكـوز إلـى فـراكتوز عند إنتاج شراب الذرة المرتفع الفراكتوز High fructose corn syrup.

٥- B - Glucanase

تحلـيل الــ B- glucans فـي المولت وتساعد فى عملية الترشيح لمستخلصات التخمير فى صناعة البيرة.

٦- Microbial proteases

تصـنيع البـروتينات النباتـية والحيوانـية إنتاج الـ Fish meal والمستخلصات البروتينية.

٧- Pectinase

معاملة الثمار لتسهيل عمليات استخلاص العصير والترويق والترشيح.

٨- Lactase

يضاف لمنتجات الألبان وهدم اللاكتوز.

٩- Lysozyme

يستخدم كعامل فقط مضاد للميكروبات.

١٠- Glucose oxidase

تحويل الجلوكوز إلى حمض جلوكونيك لتلافى تفاعلات ميلارد اللونية كمـا يسـتخدم كعامـل مسـاعد للـتخلص من الهواء عند تعبئة الأغذية ومنتجاتها لتلافى الفساد الأوكسيدى.

١١- Lipase

تشجيع تطور النكهة وتقليل الزمن اللازم لإنضاج الجبن إنتاج دهون خاصة محسنة الجودة إنتاج الجبن أو الزبد المعدلة إنزيميا.

١٢- papain

تسـتخدم لتطـرية اللحـوم وتحليل البروتينات وهضمها عند صناعة التخمير.

١٣- Chymosin

تخثر اللبن بتفاعلات إنزيمية معينة على الكازين عند تصنيع الجبن.

١٤- Cellulase

تحليل مخلفات السليلوز لإنتاج الايثانول أو البروتين وحيد الخلية.

جدول (٨٦): بعض استخدامات وتطبيقات الإنزيمات فى مجال الأغذية

مجال التصنيع الغذائى	وظيفة الإنزيم	نوع الإنزيم	مصدر الإنزيم
الطحن والخبز			
عجائن عالية اللزوجة	تحليل النشا إلى جزيئات صغيرة	الاميليز amylase	فطرى
بطء التخمر	تشجيع عملية التخمر	الاميليز amylase	فطرى
انخفاض مستوى السكر	تحويل النشا إلى سكريات بسيطة	الاميليز amylase	بكتيرى
بيات الخبز	المحافظة على الطزاجة والطراوة	الاميليز amylase	فطرى
زيادة فترة الخلط	تحليل الجلوتين	بروتيز protease	فطرى
انخفاض نكهة الخبز	المساهمة فى تطور النكهة	ليبوكسجينيز lipoxygenase	دقيق الصويا
		بروتيز protease	فطرى
دقيق باهت اللون	تبييض وأكسدة الصبغات	ليبوكسجيز Lipoxgenase	دقيق الصويا
انخفاض مستوى اللبابة والقوام	تحليل البنتوزانات	بنتوسانايز pentusanase	فطرى
اللحوم			
ارتفاع مستوى الدهون	تقليل نسبة الدهون وإزالتها	ليبيز Lipase	فطرى
لحم أبيض	تحليل بروتينات العضلات والكولاجين لإعطاء الطراوة	بروتيز protease البابين papaun	تيمر باباظ
المشروبات المقطرة			
مستخلص الـ mash كثيف	تشجيع عملية التسكر وتحليل النشا	اميليز amylase	بكتيرى
عكارة	تحليل البروتينات	بروتيز protease	فطرى
عصائر الفاكهة			
عكارة	ترويق وتحليل المواد البكتينية	بكتنيز pictenase	فطرى
لزوجة عالية	تحليل المواد البكتينية	بكتنيز pictenase	فطرى
بطء الترشيح	تحليل المواد البكتينية والتخلص من المواد العالقة	بكتنيز pictenase	فطرى
انخفاض كمية العصير	المساعدة على فصل العصارة من الثمار	بكتنيز pictenase	فطرى

انخفاض اللون	تحسين استخلاص الصبغات	بكتنيز pictenase	فطرى
مخلفات الثمار	إنتاج سكريات قابلة للتخمر	سليلوز Cellulase	فطرى
رواسب المنتج النهائى	ترويق العصير	بكتيز pickenase	فطرى
الحلوى ومنتجاتها			
لزوجة عالية	تحليل النشا	اميليز amylase	فطرى
الألبان ومنتجاتها			
انخفاض النكهة فى اللبن والجبن	تحسين وتطور الفاكهة	ليبيز Lipase	فطرى
خضروات وفاكهة محفوظة			
خشونة	تطرية الخضراوات والفاكهة قبل الطهى	سليلوز cellulase	فطرى
طعم نشوى	تحليل المواد الكربوهيدراتية	اميليز amylase	فطرى

وهناك مجموعة اختبارات إنزيمية تعرف باسم ELISA Enzyme linked immunosorbent assay تستخدم فى مجال تحليل الأغذية سواء فى الكشف detection أو التمييز deferentiation أو التقدير الكمى Quantification كما هو موضح بالجدول التالى:

نوع الكشف detection والتقدير الكمى Quantification
١- تحديد وتمييز نوعية اللحم.
٢- كشف بروتينات فول الصويا فى منتجات اللحوم.
٣- تقدير الـــ myosin فى عضلات اللحوم.
٤- كشف وتقدير بروتينات الحبوب والبابين فى البيرة.
٥- الكشف عن بروتينات الجليادين Gliadine المسبب لحساسية الجهاز الهضمى.
٦- الكشف عن الأدوية البيطرية وعوامل السمنة والهرمونات فى اللحوم ومنتجاتها.
٧- الكشف عن التوكسينات toxins (alfatoxins، enterotoxins، ochartoxins).
٨- كشف وتحليل المبيدات الحشرية pesticides فى الأغذية ومنتجاتها.
٩- كشف وتحليل الـــ Glycoalkaloids فى الأغذية ومنتجاتها.

المواد المضافة للأغذية

Food Additives

يعنـــى اصـــطلاح Food stuff جميع العناصر الغذائية التى تؤدى إلـــى نمـــو والمحافظـــة علـــى أجهـــزة جسم الإنسان، بينما يعنى اصطلاح Additives أى مـــركب أو مـــادة لا تعتبر كمكون ضمن العناصر الغذائية المعـــروفة ويـــؤدى إضـــافتها إلـــى المنـــتجات الغذائية إلى تحقيق خواص تكنولوجية أو تغذوية أو حسية لهذه المنتجات.

وتعتبـــر المعاملات التكنولوجية لعمليات التصنيع الغذائى من العوامل المؤثـــرة علـــى جـــودة المنتج ولذا تضاف بعض المركبات الكيميائية بهدف تحســـين خواص تلك الجودة. وتختلف مضافات الأغذية Food additives عن ملوثات الأغذية Food contaminant حيث تضاف الأولى عمدا إلى المنـــتج الغذائـــى بهدف تحقيق غرض معين وبنسب وتركيزات مسموح بها رســـميا تكون فى الحدود الآمنة وغير ضارة بالمستهلك، بينما تصل الثانية إلـــى المـــادة الغذائـــية عن طريق الخطأ أو الإهمال أو الجهل لمصادر هذه الملـــوثات، وبالتالـــى فإن مضافات الأغذية عبارة عن مركبات تضاف إلى المـــواد الغذائية سواء خلال معاملات التصنيع أو التعبئة أو التخزين دون أن تشـــكل هـــذه المضـــافات جزءا رئيسيا فى المادة الغذائية حيث إنها تضاف بتركيزات صغيرة جدا لتحقيق الغرض المطلوب. ويجب أن تكون مضافات الأغذيـــة ونـــواتج تحللهـــا غيـــر ســـامة بالصحة العامة فى حدود استخدام التركيزات المسموح بها.

وتقســـم المـــواد المضافة للأغذية حسب الغرض من استخدامها على النحو التالى:

أ مواد مدعمة تغذويا — Nutritional supplement

ب- مود حافظة — Preservating agents

ج محسنات للألوان — Colouring agents

د محسنات للنكهة Flavouring agents

هـ- مواد منظمة للحموضة Acid Buffering

و مواد محلية Sweeteners

ز -مواد تتحكم فى الخصائص الوظيفية Functional agents

والمواد المدعمة تغذويا عبارة عن مركبات تؤدى إلى زيادة القيمة التغذوية Nutritional value للمنتج الغذائى وتشمل الفيتامينات Vitamines، الأحماض الأمينية ومشتقاتها amino acid deravatives، الأملاح المعدنية mineral، مواد تعديل السعرات الحرارية caloric agents.

وتضاف المواد الحافظة إلى المنتجات الغذائية للحفاظ على مستوى الجودة منها لأطول فترة تخزينية ممكنة وذلك بتثبيط أو إيقاف عوامل التدهور أو الفساد الكيميائى أو الحيوى سواء بالكائنات الحية الدقيقة أو الحشرات والأفات الحشرية، وتشمل المواد الحافظة الأملاح المعدنية مثل كلوريد الصوديوم أملاح النتريت والنترات أملاح السلفيت ثانى أكسيد الكبريت ثانى أكسيد الكربون فوق أكسيد الهيدروجين الأحماض العضوية المركبات العضوية الفينولية. وتستخدم كلوريد الصوديوم كمادة مكسبة لطعم الملحى salty taste ولكن وجد له تأثير حافظ حيث إنه يؤثر على درجة النشاط المائى aw للميكروبات، وتضاف أملاح النيتريت والنترات إلى اللحوم المعالجة مثل البسطرمة لتحسن اللون ولكن لها تأثير حافظ أيضا، ولقد وجد أن أملاح السلفيت وغاز ثانى أكسيد الكبريت ذو تأثير مضاد للأكسدة ويحافظ على اللون فى الأغذية، كما أن غاز ثانى أكسيد الكربون له تأثير مثبط للميكروبات خاصة البكتريا الهوائية منها والفطريات. كما أن فوق أكسيد الهيدروجين يثبط البكتريا اللاهوائية.

وتستخدم الأحماض العضوية الكربوكسيلية ذات السلسلة المستقيمة المشبعة وأملاحها مثل حمض الخليط acetic acid وحمض البروبيونيك propionic acid المضاد لنمو الفطريات كذلك حمض الفورميك formic

وتتزايد التأثير المثبط لنشاط الميكروبات فى حالة الأحماض العضوية acid، ويزداد التأثير المثبط لنشاط الميكروبات فى حالة الأحماض العضوية غير المشبعة مثل حمض السوربيك sorbic acid وحمض البنزويك Benzoic acid وأملاحها حيث إنها ذات تأثير مضاد لنشاط البكتريا والخمائر خاصة على درجة حموضة أقل من ٤.

وتعتبر المركبات العضوية الفينولية من المواد الحافظة المانعة للتدهور الأكسيدى Oxidative detioration والتلون البنى مثل مركبات BHA , BHT , TBHQ , Ethoxyquin.

وتجدر الإشارة إلى أن المضادات الحيوية Antibiotic لها تأثير حافظ ويثبط لنشاط الكائنات الحية ولكن يحظر استخدامها فى مجال التصنيع الغذائى لما لها من تأثيرات صحية ضارة على المستهلك.

ويمكن المحافظة على المنتج الغذائى من الفساد التأكسدى كما يلى:

أ منع العوامل المشجعة أو المسببة للأكسدة مثل: تقليل حجم الأكسوجين أو الهواء خفض التأثير الحرارى خفض تركيز العوامل المساعدة مثل العناصر المعدنية والإنزيمات تقليل تأثير الضوء.

ب- إضافة مركبات أو مواد تمنع حدوث الأكسدة أو تؤخرها والتى تسمى بالمواد المضادة للأكسدة Antioxidant سواء طبيعية مثل التوكوفيرولات Tochopherols وحمض الأسكوربيك Ascorbic acids أو المركبات الصناعية أو المشتقات الفينولية.

وتضاف المواد المحسنة للون فى المنتجات الغذائية بهدف تحسن اللون أو معالجة أى خطأ غير مقصود وقد حدث أثناء عمليات التصنيع الغذائى كذلك بهدف إعطاء المنتج مظهر جذاب للمستهلك. ويوضح الجدول رقم (٨٧) المواد الملونة المسموح بها والمقارنة بينها واستخدامها فى مجال تصنيع الأغذية.

جدول (٨٧): خواص المواد الملونة المضافة للأغذية ومنتجاتها

اسم المادة الملونة	اللون المميز	المذيب	طول الموجة ملليمترون	الاستخدام الغذائي
المواد الملونة الطبيعية Natural colourants				
بيتا كاروتين B-carotene	برتقالي	سيكلوهكسان	٤٥٣-٤٥٦	المشروبات · البودنج ·· الحلوي ·· الزبادي · الدهون
الكيلوبين Lycopene	برتقالي	هكسان	٤٧٨	كاتشب الصلصة المايونيز
بيتاابون كاروت B-Apo-8-carotena	برتقالي	سيكلوهكسان	٤٦٠-٤٦٢	الصلصة المشروبات · الحلوي ومنتجاتها
ريبوفلافين Riboflavin	أصفر	ماء	٤٤٥	مايونيز · البودنج ·· الحلوي ·· المرق
انثوسيانيدين Anthoryanidin	أحمر بنفسجي	ماء	٥٢٠-٥٤٦	المربي المشروبات ·· فيشار
كيوركيومين Curcumin	أصفر أحمر	ايثانول	٤٢٦	المسنردة
كانثازانثين Canthaxanthin	برتقالي	كلوروفورم	٤٨٥	المشروبات ·· منتجات الطماطم
بيكسين Bixin	برتقالي	كلوروفورم	٤٧١-٥٠٣	الدهون · المايونيز
كارمين Carmine	أحمر	محلول امونيا	٥١٨	مشروبات كحولية
كلوروفيل Chlorophyll	أخضر	كلوروفورم	٤١٢	الزيوت الغذائية
كلوروفيلين Chlorophyllin	أخضر	ماء	٤٠٥	الحلوي ومنتجاتها · السوائل · الجيلي
المواد الملونة الصناعية Synthetic colourents				
التارتازين Tartazine	أصفر ليموني	ماء	٤٢٦	السبودنج الجساف · الحلوي ومنتجاتها ايس كريم
صن ست Sunset	برتقالي	ماء	٤٨٥	المشروبات · الفاكهة المحفوظة ·· الحلوي
كارموسين Carmosine	أحمر مزرق	ماء	٥١٦	المشروبات الحلوي ومنتجاتها ·· ايس كريم ·· بودنج
أمارانث Amaranth	أحمر مزرق	ماء	٥٢٠	المشروبات ·· الفاكهة المحفوظة ·· الحلوي ·· المربي
بونكسيو Poneau 4R	قرمزي	ماء	٥٠٥	المشروبات · منتجات الحلوي · الجبن
أريثروسين Erythrosine	أحمر فراولة	ماء	٥٢٧	المربي الحلوي ومنتجاتها
أحمر ٢ ج Red 2G	أحمر مزرق	ماء	٥٣٢	الحلوي ومنتجاتها
الديجوكارمين Endigo carmine	أرجواني	ماء	٦١٠	الحلوي ومنتجاتها
ازرق ف Blue V	أزرق	ماء	٦٣٨	المشروبات · الحلوي ومنتجاتها
بريليانت ازرق Brilliant blue	أزرق	ماء	٦٣٠	المشروبات · الحلوي ومنتجاتها
اخضر س Green S	أخضر	ماء	٦٣٢	الحلوي ومنتجاتها
بلاك بي ان Black BN	بنفسجي	ماء	٥٧٠	الحلوي ومنتجاتها

المصدر: Belitz and Grosch (1999)

وتشـــمل محسنات النكهة Flavouring agents مستخلصات الزيوت العطـــرية Essential oils والاسنســـات Asences ونـــواتج الـــتفاعلات الإنزيمية والتخمرات كما تشمل مركبات مشتقة تحضر صناعيا مثل صوديوم مونوجلـــوتامات Sodium miono glotamate الذى يعطى طعم اللحم أو النكهة اللحمية Meaty flavour، ويعرض الجدول رقم (٨٨) أنواع النكهة المختلفة فى الأغذية ومنتجاتها.

جدول (٨٨): انواع النكهة المختلفة في الاغذية ومنتجاتها

Onion	نكهة بصل	Fruity	نكهة الفاكهة
Sulfur	نكهة كبريتية	Sweet	نكهة حلوة
Strength	نكهة قوية	Milky	نكهة لبنية
Bitter	نكهة مرة	Creamy	نكهة كريمي
Smoky	نكهة مدخنة	Natural yogurt	نكهة الزبادي الطبيعي
Chemical	نكهة كيميائية	Cheddary	نكهة الجبن التشدر
Rstvingeut	نكهة قابضة	Caramel	نكهة الكرمل
Rancid	نكهة زنخة	Nutty	نكهة النقل او الجوزي
Sour	نكهة حامضية	Oily	نكهة زيتية
Meaty	نكهة لحمية	Grassy	نكهة عشبية
Fishy	نكهة سمكية	Buttery	نكهة دهنية
Processoed	نكهة مصنعة او معالجة	Salty	نكهة ملحية
Soapy	نكهة صابوني	Metalic	نكهة معدنية
Waxy	نكهة شمعية	Moldy	نكهة عفن
Tallowy	نكهة شحمية	Pungent	نكهة حريفة
Rotten	نكهة فاسدة	Vomity	نكهة قيء
Cardboard	نكهة كرتونية	Vinger	نكهة الخل
		Cheesy	نكهة جبن

والمحلـــيات المضافة للأغذية ومنتجاتها تنقسم إلى محليات غذائية مثل الســـكروز Sucrose، الفـــراكتوز fructose إلخ ومحليات غير غذائية مـــثل الســـكارين saccharin ولاســـبارتام Aspartame وغيرها، ويمكن عرض وإيجاز أنواع المحليات وتقسيمها كما يلى:

محليات غذائية **Nutritive sweeteners**	محليات غير غذائية **Non-nutritive sweeteners**
جلوكـــوز glucose، فراكتوز fructosp السكر المحول inert sugar - سكروز Sucrosp	سكارين cyclamate sd;blhj Saccharine الاســـبارتام Aspartame Acesulfame اسكلافام ك. K
سكريات عديدة **Polyols**	محليات أخرى **Others**
لاكيـــتول Lactitol مالتيـــتول Maltitol ســـوربيتول Sorbitol زيلـــتول Xylitol - شـــراب الجلوكوز Hydrogenated glucose syrup	دولســـين Dulcin - سكاروليز Sucralose ثيوماتـــــــين Thaumatin ستيفيوســـــــيد Stevioside

والجـــدول رقـــم (٨٩) يوضـــح بعض خواص المحليات غير الغذائية وتقـــوم السكريات والمحليات بوظيفتها كمواد تحلية وبالإضافة إلى ذلك فإن لها خصـائص أخرى فهى تؤثر على نكهة المنتج واللزوجة كما أن لها تأثير حـــافظ عـــند تركيـــز معين ٦٨ ٧٠% لما فى المربى والجيلى والفاكهة المحفـــوظة بالســـكر كمـــا أن لهـــا قدرة على امتصاص الماء والاحتفاظ بالرطوبة فى الأغذية علاوة على أن المحليات مصدر للطاقة خاصة الأنواع الغذائية منها.

جدول (٨٩): بعض خواص المحليات غير الغذائية

Sweet-ener	Sweetness In relation to sucrose	After-Raste	Stability In solution	During heating	ADI[a] (mg/kg body weight)
Acesulfame K	150x	Very slight, bitter	Stable	Stable	9.0
Asparmame	180x	Prolonged sweetness	Not stable in acid conditions	Unstable, sweetness may disappear	40.0
Cyclamate	30-60x	Chemical flavor	Relatively stable	Relatively stable	11.0
Saccharin	300x	Bitter metallic	Stable in pH<2.0	Relatively stable	2.5
Stevioside	100-300x	Bitter	Relatively stable	Relatively stable	Not evaluated
Talin	200-2500x	Licorice-like	Relatively stable	Stable at neutral to low pH	Not specified
Sucralose	600x	-	Stable	Stable	Not evaluated

بينما المحليات غير الغذائية عديمة الطاقة كما أن المحليات تحسن من القـوام كما أنها تعتبر مواد مالئة Bulking agents ويمكن إيجاز خواص المحليات في الأغذية فيما يلى:

١- مواد تحلية Sweeteners.

٢- مواد مالئة Bulking agents مواد محسنة للقوام texturing agents معدل اللزوجة viscosity modified.

٣- مواد حافظة preservators.

٤- تدخل فى عمليات ومعاملات التخمرات الصناعية.

٥- مواد مرطبة Humectant.

٦- مواد معدلة لنقطة التجمد freezing point modifier.

٧- مواد مكسبة للنكهة.

٨- مواد معدلة للتبلور cry stallization modifi.

٩- مواد مانعة للتسوس Anti cariogenile agents.

ويوضح الجدول رقم (٩٠) الاستخدامات الغذائية لأنواع المحليات.

جدول (٩٠): الاستخدامات الغذائية للمحليات

Sweetener	Suitable food uses
Saccharin	Soft drinks, table-top sweeteners, dessert mixes, yogurt.
Cyclamates	Soft drinks, table-top sweeteners
Aspartame	Soft drinks, dry foods, ice cream, yogurt, fruit juices, table-top sweeteners
Aceaulfame K	Soft drinks, table top sweeteners
Sorbitol	Special dairy foods.
Xyllol	Chewing gum dietetic foods, pharmaceuticals
Sucrose	All foods
Fructose	Almost all foods

وتشـــمل المواد المضافة للأغذية والتي تتحكم في الخصائص الوظيفية مجمـــوعة مـــن المـــركبات مثل المواد المستحلبة، المواد المكسبة للصلابة والتحكم في الخواص الغروية والقوام ومواد الرغوة.

ويمكـــن إيجاز وعرض الاستخدامات المختلفة للمواد المضافة للأغذية في مجال التصنيع الغذائي في الجدول رقم (٩١).

جدول (٩١): الاستخدامات المختلفة للمواد المضافة في مجال التصنيع الغذائي

Clrifying	ترويق	Flavouring agents	مواد نكهة
Foaming	إنتاج رغوة	Flavour enhancing	إظهار نكهة
Leavening	مواد رفع	Colouring agents	مواد ملونة
Buffering	مواد منظمة	Colour retaining	المحافظة علي اللون
Peeling	تقشير	Sweeteners	مواد محلية
Plastizing	مواد لاحمة	Bleaching	قصر لون
Preservator	حافظة	Texturizing	مكسبات قوام
Antioxidants	مضادة للأكسدة	Thickening	مكسبات ثخانة
Neutralizing	تعادل	Creaming	إكساب قوام القشدة
Acidifying	تحميض	Fitining	الصلابة
Alkalizing	قلوية	Drying	تجفيف
Glazing	تزجيج	Whipping	خفق
Maturing	إنضاج (عجائن)	Conditioning	تكييف
Cill-proofing	مقاومة للتبريد	Sterilizing	تعقيم
Anti-caking	مقاومة للتكتل	Dissolving	إذابة
Anti-drying	مقاومة للجفاف	Enriching	تدعيم
Anti-foaming	مانعة للرغوة	Emulsifying	استحلاب
Anti-hardening	مانعة للتصلب	Dispersing	انتشار
Anti-scattering	مقاومة للتشتت	Curing	انضاج
Anti-sticking	مقاومة للتلاصق	Stabilizing	تثبيت
Lining-containers	تبطين العبوة	Pressure-dispersing	موزعة ضغط
Air-replacing	إحلال هواء	Refining	تكرير
Water-rataining	منظمات رطوبة	Sequestering	مزيلات ايونات معدنية
Water proofing	المحافظة علي الرطوبة	Supplementing	تدعيم مغذيات

ولقـــد وضـــعت هيـــئة دستور الأغذية نظام للمجاميع الخاصة بالمواد الغذائية المتعلقة بالمواد المضافة كما يلي:

نظام المجاميع الخاصة بالمواد الغذائية المنبثقة عن المواصفات العامة لهيئة دستور الأغذية والمتعلقة بالمواد المضافة

رقم المجموعة	المواد الغذائية الداخلة فى نطاق كل مجموعة
01.0	منتجات الألبان فيما عدا المنتجات المبينة فى المجموعة 02.0
10.0	الألبان والمشروبات التى أساسها الألبان
01.1.1	الألــبان بما فيها لبن الماعز وتشمل الألبان المعقمة والمعاملة حراريا بدرجة حرارة مرتفعة ولمدة قصيرة جدا (UHT)
01.1.1.2	الزبدة الطبيعى
01.1.2	المشروبات التى أساسها الألبان سواء المنكهة أو المتخمرة مثل اللــبن الشــيكولاته الكاكاو الزبادى أو المشروبات التى أساسها شرش.
01.2	منتجات الألبان المتخمرة فيما عدا المنتجات المدونة تحت رقم 01.1.2
01.2.1	الألبان المتخمرة
01.2.1.1	الألبان المتخمرة غير المعاملة حراريا بعد التخمر
01.2.1.2	الألبان المتخمرة والمعاملة حراريا بعد التخمر
01.2.2	الألبان المتخثرة
01.3	اللبن المكثف (المركز) ومشابهاته
01.3.1	اللبن المكثف
01.3.2	المشروبات المتسخدمة فى التبييض (كريمة قهوة)
01.3.3	الألبان المكثفة المحلاه (غيرالمنكة والمنكهة) ومشابهاتها
01.4	القشدة ومشابهاتها
01.4.2	القشدة المعقمة أو المعاملة حراريا بدرجة حرارة مرتفعة ووقت قصير أو المخفوقة أو المنخفضة فى نسبة المواد الدهنية
01.4.3	القشدة المتخثرة
01.4.4	مشابهات القشدة

01.5 مسحوق اللبن (اللبن المجفف) والقشدة المجففة
01.5.1 اللبن المجفف والقشدة المجففة الطبيعية
01.5.2 مشابهات اللبن المجفف والقشدة المجففة
01.5.3 مخلوط اللبن المجفف والقشدة المجففة (الطبيعية أو المنكهة)
01.6 الجبن
01.6.1 الجبن غير الناضج
01.6.2 الجبن الناضج
01.6.2.1 الجبن كامل الناضج والمتضمن rind
01.6.2.2 Rind للجبن الناضج
01.6.2.3 مسحوق الجبن (للاستخدام فى صوص الجبن)
01.6.3 جبن الشرش
01.6.4 الجبن المطبوخ
01.6.41 الجبن المطبوخ بدون إضافات
01.6.4.2 الجبن المطبوخ المنكه باحتوائه على فواكه خضر لحوم وغيرها
01.6.5 مشابهات الجبن
01.6.6 جبن بروتين الشرش
01.7 الحلوى المبنية على أساس الألبان مثل الآيس كريم واللبن المبرد والبودنج والزبادى المحتوى على فواكه وغيرها.
01.8 الشرش ومنتجات الشرش فيما عدا جبن الشرش
02.0 الزيوت والدهون ومستحلبات الدهون (من نوع ماء فى زيت)
02.1 الزيوت والدهون الخالية تماما من الماء
02.1.1 الزبدة المنتجة من الزيوت & دهن اللبن منزوع الماء &Ghee
02.1.2 الزيوت والدهون النباتية
01.2.3 دهن الخنزير & شحوم البقر & زيت السمك & دهون حيوانات أخرى
02.2 المستحلبات الدهنية من نوع (ماء فى زيت)

02.2.1 المستحلبات على الأقل على ٨٠% مواد دهنية
02.2.1.1 الزبدة والزبدة المركزة
02.2.1.2 المارجرين ومشابهاته (خليط المارجرين والزبد)
02.2.2 المستحلبات الدهنية المحتوية على أقل من ٨٠% مواد دهنية مثل المينارين
02.3 المستحلبات الدهنية غير المبينة فى القسم 02.2 والمتضمنة مخاليط أو منتجات منكهة تعتمد على المستحلبات الدهنية
02.4 الحلويات التى أساسها المواد الدهنية فيما عدا الحلويات التى أساسها المنتجات اللبنية والمتضمنة فى القسم 01.7

03.0 المثلوجات الغذائية والمتضمنة الشربات والـ Sorbet

04.0 الفواكه والخضراوات (والتى تشمل على عيش الغراب والفطريات والجذور والدرنات والبقوليات والطحالب البحرية) والنقل والبذور

04.1 الفواكه
04.1.1 الفواكه الطازجة
04.1.1.1 الفواكه الطازجة غير المعاملة
04.1.1.2 الفواكه الطازجة والمعاملة سطحيا
04.1.1.3 الفواكه المقشرة أو المجزأة
04.1.2 الفواكه المصنعة
04.1.2.1 الفواكه المجمدة
04.1.2.2 الفواكه المجففة
04.1.2.3 الفواكه المصنعة فى الخل أو الزيت أو المحلول الملحى
04.1.2.4 الفواكه المعلبة أو المحفوظة فى الزجاجات (المعاملة بالبسترة)
04.1.2.5 المربى والجيلى والمرملاد
04.1.2.6 المواد القابلة للفرد التى أساسها الفاكهة فيما عدا المنتجات الغذائية الموضحة فى القسم04.1.2.5
04.1.2.7 الفاكهة المعلبة
04.1.2.8 محضرات الفاكهة والتى يدخل فى ضمنها لبت الفاكهة &

	مهروس الفاكهة & الفاكة المستخدمة فى التغطية ولبن الكاكاو
04.1.2.9	الحلــوى التى أساسها الفاكهة والمتضمنة الحلوى التى أساسها الفاكهة المنكهة فى وجود الماء
04.1.2.9	منتجات الأغذية المتخمرة
04.1.2.11	الفاكهة المستخدمة كمواد مالئة فى الجاتوه
04.1.2.12	الفاكهة المطبوخة أو المشوية Fried
04.2	الخضـــراوات (عيش الغراب والفطريات والجذور والدرانات والبقوليات) والطحالب البحرية والنقل والبذور
04.2.1	الخضراوات الطازجة والنقل والبذور
04.2.1.1	الخضراوات الطازجة غير المعاملة والنقل والبذور
04.2.1.2	الخضراوات الطازجة والمعاملة سطحيا والنقل والبذور
04.2.1.3	الخضـــراوات المقشـــرة والمقطعـــة والتى على صور شرائح والنقل والبذور
04.2.2	الخضراوات المصنعة & الطحالب البحرية والنقل والبذور
04.2.2.1	الخضراوات المجمدة
04.2.2.2	الخضراوات المجففة & الطحالب البحرية & النقل & البذور
04.2.2.3	الخضـــراوات والطحالب البحرية المصنعة بالخل أو الزيت أو فى محلول ملحى أو فى صوص الصويا
04.2.2.4	الخضـــراوات المعلبة أو المبسترة فى زجاجات أو المعقمة فى أكياس
04.2.2.5	بوريه الخضراوات والنقل والبذور مثل زبدة الفول السودانى
04.2.2.6	مستحضرات الخضراوات والنقل ولب البذور (مثل الحلويات التـــى على أساسها الخضراوات & الصوص & الخضراوات المسكرة & خثرة فول الصويا) غير المجموعة 04.2.2.5
04.2.2.7	منتجات الخضراوات المتخمرة
04.2.2.8	الخضراوات المطبوخة أو المشوية والطحالب البحرية
05.0	**السكاكر**

05.0 منــتجات الكاكـــاو ومنـــتجات الشــكولاته والتى تشتمل على مشابهاتها وبديلات الشكولاته

05.1.1 خليط الكاكاو (مسحوق أو شراب)

05.1.2 المواد المائلة أو القابلة للفرد والتى على أساسها الكاكاو

05.1.3 منتجات الشكولاته ومنتجات الكاكاو (مثل الشكولاته باللبن & رقائــق الشيكولاته والشيكولاته البيضاء) فيما عدا المجموعة المبينة فى رقم 05.1.1 , 05.1.2 , 05.1.4

05.1.4 مشابهات الشكولاته وبدائل الشكولاته

05.2 السكاكر والتى تشتمل الطوفى الصلب والمرت & النوجه فيما عدا المنتجات المبينة تحت الرقم 05.1 , 05.3 , 05.4

05.3 اللبان

05.4 مكملات مثل المواد المستخدمة فى تغطية أسطح السكاكر عدا الفواكه

06.0 الحبوب ومنتجات الحبوب والتى تشتمل الدقيق والنشا المنتج مــن الجذور والدرنات والبقوليات فيما عدا منتجات المخابرز المبينة فى البند رقم 07.0

06.1 الحبوب الكاملة أو المكسرة أو التى على هيئة شرائح بما فيها الأرز

06.2 الدقيق والنشا

06.3 حــبوب الإفطـــار بمـــا فـــيها منـــتجات الشوفان الملفوفة أو الاسطوانية

06.4 الجاتــوه والمكــرونة الأسطوانية الرفيعة ومشابهاتها (ورق الأرز & مكرونة الأرز الشعرية)

06.4.1 الجاتوه الطازج والمكرونة الشعرية والمنتجات المماثلة

06.4.2 الجاتــوه المطــبوخ مســبقا أو المجفــف والمكرونة الشعرية والمنتجات المماثلة

06.5 الحلــويات التى أساسها الحبوب والنشا (بودنج الأرز وبودنج التابيوكا)

06.6 العجـــائن السائلة (المستخدمة فى منتجات المخابز أو الأسماك أو الدواجن)

06.7 كعك الأرز (النوع الشرقى فقط)

07.0 منتجات المخابز

07.1 الخبز ومنتجات المخابز المتعارف عليها

07.1.1 الخبز واللفائف

07.1.2 البسكويت الرقيق فيما عدا البسكويت الرقيق الحلو

07.1.3 منــتجات مخابـــز أخـــرى معـــروفة (مثل السميط والفطير الإنجليزى)

07.1.4 منتجات مخابز مثل (أنواع الخبر المحشو وكسر الخبز)

07.1.5 منتجت مخابز مثل الخبز المعامل بالبخار أو الخبز القرص

07.2 منتجات المخابز المتميزة

07.2.1 الكيك & كعك صغير محلى & الفطائر (مثل الفاكهة المحشوة أو الكاسترد

07.2.2 منتجات مخابز أخرى متميزة (جوز الهند & الفطائر)

07.2.3 الخلطـــات المستخدمة فى منتجات المخابز المتميزة مثل الكعك والفطائر المحلاه

08.0 اللحــوم ومنــتجات اللحــوم بما فيها الدواجن ومنتجات على صور مختلفة

08.1 اللحوم الطازجة & الدواجن

08.1.1 اللحــوم الطازجة & الدواجن كمنتجات على صور مختلفة & الكاملة أو المجزأة

08.2 اللحوم المصنعة والدواجن ومنتجات على صور مختلفة الكاملة أو المجزأة

08.2.1 اللحوم المعالجة المصنعة وغير المعاملة حراريا & الدواجن & ومنتجات على صور مختلفة الكاملة أو المجزأة

08.2.1.1 اللحــوم المعالجــة المصنعة وغير المعاملة حراريا (بما فيها اللحــوم المملحـــة) & الدواجن & منتجات على صور مختلفة

الكاملة أو المجزأة

08.2.1.2 اللحـوم المعالجة والمصنعة على صورة مجففة وغير معاملة حـراريا & الـدواجن & منـتجات على صور مختلفة الكاملة والمجزأة

08.2.1.3 اللحـوم المصـنعة بالتخمر وغير المعاملة حراريا & الدواجن ومنتجات على صور مختلفة الكاملة أو المجزأة

08.2.2 اللحـوم المصـنعة بالتخمـر والمعاملـة حراريا & الدواجن ومنتجات على صور مختلفة الكاملة أو المجزأة

08.2.3 اللحـوم المصـنعة بالتجميد & الدواجن ومنتجات على صور مختلفة الكاملة أو المجزأة

08.3 اللحوم المعالجة & الدواجن ومنتجات على صور مختلفة

08.3.1 اللحـوم المعالجة وغير المعاملة حراريا & الدواجن ومنتجت على صور مختلفة

08.3.1.1 اللحوم المعالجة (بما فيها المملحة) وغير المعاملة حراريا & الدواجن ومنتجات أخرى على صور مختلفة

08.3.1.2 اللحـوم المعالجة (بما فيها المملحة) واللحوم المتبلة المجففة وغير المعاملة حراريا & الدواجن ومنتجات أخرى على صور مختلفة

08.3.1.3 اللحـوم المتـبلة المتخمرة وغير المعاملة حراريا & الدواجن ومنتجات أخرى على صور مختلفة

08.3.2 اللحـوم المتـبلة والمعاملة حراريا & الدواجن ومنتجات على صور مختلفة

08.3.3 اللحـوم المتـبلة والمصـنعة على صورة مجمدة & الدواجن ومنتجات أخرى على صور مختلفة

08.4 أغلفة تستخدم فى الدقائف وغيرها

09.0 الأسماك ومنتجات الأسماك بما فيها الرخويات والقشريات

09.1 الأسماك الطازجة ومنتجاتها بما فيها الرخويات والقشريات

09.1.1 الأسماك الطازجة

09.1.1 الرخويات والقشريات الطازجة

09.2 الأسماك المصنعة ومنتجات الأسماك بما فيها الرخويات والقشريات

09.2.1 الأسماك المجمدة & شرائح الأسماك ومنتجاتها بما فيها الرخويات والقشريات

09.2.2 الأسماك المجمدة على صورة فطائر & شرائح الأسماك بما فيها الرخويات والقشريات

09.2.3 الأسماك المجمدة المفرومة ومنتجاتها المهروسة بما فيها الرخويات والقشريات

09.2.4 الأسماك المطبوخة أو المشوية ومنتجات الأسماك بما فيها الرخويات والقشريات

09.2.4.1 الأسماك المطبوخة ومنتجاتها

09.2.4.2 القشريات والرخويات المطبوخة

09.2.4.3 السمك المشوى ومنتجاته بما فيها الرخويات والقشريات

09.2.5 السمك المدخن & المجفف& المتخمر والمحضر على صورة مملحة أو بدون بما فيها المنتجات من الرخويات والقشريات

09.3 الأسماك نصف المحفوظة (نصف المصنعة) ومنتجاتها بما فيها الرخويات والقشريات

09.3.1 الأسماك ومنتجات الأسماك بما فيها الرخويات والقشريات والمحضرة على صورة منقوع فى ماء مالح من البحر أو على صورة جيلى

09.3.2 الأسماك ومنتجات الأسماك والتى تشمل على الرخويات والقشريات المملحة أو المحفوظة فى محلول ملحى

09.3.3 بديلات السالمون & الكافيار (البطارخ) ومنتجات البطارخ السمكية الأخرى

09.3.4 الأسماك نصف المصنعة ومنتجاتها بما فيها الرخويات والقشريات (مثل معجون الأسماك) ما عدا المنتجات الموضحة فى البند رقم 09.3.3 , 09.3.1

09.4 الأسماك المحفوظة على صورة معلبة أو المتخمرة ومنتجاتها بما فيها الرخويات والقشريات

10.0 البيض ومنتجات البيض

10.1 البيض الطازج

10.2 منتجات البيض

10.2.2 منتجات البيض السائلة

10.2.3 منتجات البيض المجمدة

10.3 منتجات البيض المجففة أو المحضرة على صورة متخثرة

10.3 البـيض المحفـوظ بما فيها منتجات البيض المعلبة والمملحة والقلوية

10.4 منتجات البيض التى أساسها الحلويات مثل الكاسترد

11.0 المحليات بما فيها العسل

11.1 السـكر الأبيض والسكر نصف الأبيض (الأصفر) (سكروز) & سـكر الفـركتوز & سـكر الجلوكوز (دكستروز) والزيلوز & والمحاليل السكرية والشراب & وكذلك السكريات المحولة جزئيا مثل المولاس & دبس السكر والسكر المستخدم كطبقة علوية

11.2 أنواع أخرى من السكريات والشراب مثل السكر البنى وشراب القيقب (شراب المابل)

11.3 العسل

11.4 المحليات بما فيها المحليات ذات درجة الحلاوة العالية

12.012.0 الأمـلاح & الـتوابل & الحسـاء & السـلطات & المنتجات البروتينية

12.1 الملح

12.2 الأعشـاب & الـتوابل & والمتبلات (بما فيها بدائل الملح) والـبهارات مثل المتبلات المستخدمة فى المكرونة المحضرة على شكل شرائط سريعة الإعداد

12.3 الخل

12.4 المسترد

12.5 الحساء والمرق

12.5.1 الحسـاء والمرق بما فيها المعلبة & المحفوظة فى زجاجات & والمجمدة

12.5.2 خلطات الحساء والمرق

12.6 الصلصلة ومشابهاتها

12.4.1 الصلصة المستحلبة مثل صلصة البيض بالتوابل ومرق التوابل

12.6.2 الصلصلة غير المستحلبة مثل صلصة الطماطم المتبلة (كاتشوب) وجبن الصوص وقشدة الصوص (الجبنة أو القشدة المخلوطة بالصوص) ومرق اللحم ذو اللون البنى

12.6.3 خليط الصلصة ومرق اللحم

12.6.4 الصلصة النقية مثل صوص الصويا وصوص السمك

12.7 السلاطة (مثل مكرون السلاطة & بطاطس السلاطة) والسندوتشات فيما عدا المبنية على أساس الكاكاو وجوز الهند المبنية فى بند

12.8 الخمائر والمنتجات المتشابه

12.9 المنتجات البروتينية

13.0 الأغذية المحشية والمستخدمة فى نواحى تغذوية معينة

13.1 أغذية الأطفال (خلطات أغذية الأطفال)

13.2 أغذية الفطام للأطفال الرضع والأطفال فى مرحلة النمو

13.3 الأطعمة المغذية والمستخدمة فى بعض الأغراض الطبية بما فيها المستخدمة فى الأطفال الرضع والأطفال صغيرة السن

13.4 الخلطات الغذائية لتقليل الوزن والنحافة

13.5 الأطعمة المغذية (مثل الأغذية المكملة للأغراض التغذوية) فيما عدا الأغذية المبينة فى 13.1 , 13.4

13.6 الأغذية المكملة

14.0 المشروبات فيما عدا منتجات الألبان

14.1 المشروبات غير الكحولية

14.1.1 الماء

14.1.1.1 المياه المعدنية الطبيعية والمياه ذات المصادر الطبيعية

14.1.1.2 مياه المائدة (مياه الشرب العادية) وماء الصودا

14.1.2 عصائر الفاكهة والخضراوات

14.1.2.1 عصير الفاكهة المبستر (معلب أو معبأ فى زجاجات)

14.1.2.2 عصير الخضر المبستر (معلب أو معبأ فى زجاجات)

14.1.2.3 مركزات عصير الفاكهة (سائلة أو صلبة)

14.1.2.4 مركزات عصير الخضر (سائلة أو صلبة)

14.1.3 تكتار (شراب) الفواكه أو الخضر

14.1.3.1 نكتار الفاكهة المبستر (معلب أو معبأ فى زجاجات)

14.1.3.2 نكتار الخضر المبستر (معلب أو معبأ فى زجاجات)

14.1.3.3 نكتار الفاكهة المركز (سائل أو صلب)

14.1.3.4 نكتار الخضر المركز (سائل أو صلب)

14.1.4 المشـــروبات المنكهه والتى أساسها الماء بما فيها المشروبات الرياضية أو الإلكترونية والمشروبات الخاصة

14.1.4.1 المشروبات المحتوية على ثانى أكسيد الكربون

14.1.4.2 المشروبات غير المحتوية على ثانى أكسيد الكربون بما فيها

14.1.4.3 المشروبات المركزة (سائلة أو صلبة)

14.1.5 القهــوة وبــدائل القهــوة والشاى ومستخلصات الأعشاب الطبية ومشروبات أخرى حريفة من الحبوب والبقوليات فيما عدا الكاكاو

14.2 المشـــروبات الكحولـــية بمـــا فيها المشابهات عديمة الكحول أو منخفضة فى نسبة الكحول

14.2.1 مشروبات البيرة والمولت (الشعير المنبت)

14.2.2 شراب التفاح

14.2.3 الخمور

14.2.3.1 الخمر النقى المعتق

14.2.3.2 الخمر الفوار أو الرائع وشبيه الخمر الفوار أو الرائع

14.2.3.3 الخمر المدعم والخمر الكحولى المنعش

14.2.3.4 الخمر ذو الرائحة المعتقة

14.2.4 خمر الفاكهة

14.2.5 الشراب المخمر

14.2.6 المشروبات الروحية

14.2.6.1 المشروبات الروحية المحتوية على أكثر من ١٥% كحول

14.2.6.2 المشروبات الروحية المحتوية على أقل من ١٥% كحول

15.0 الأغذيـــة السافورى سريع التناول أو الأغذية الملطفة (اللذيذة المشهيات) المعدة للاستهلاك مباشرة

15.1 الوجبات الخفيفة المستندة إلى البطاطس & الحبوب & الدقيق& النشا (والمنتجة من الجذور & الدرنات & والبقوليات)

15.2 الـــنقل المصنعة بما فيها خليط النقل أو المستخدمة فى التغطية (ومنها الفواكه المجففة)

15.3 الوجبات الخفيفة المستندة إلى الأسماك

16.0 مـــواد غذائـــية أخـــرى مركبة (مثل فطائر اللحم & اللحوم المفرومة & أطباق) وهى الأغذية والتى لا يمكن وضعها فى أى قسم من الأقسام المبينة من رقم (01-15)

REFERENCES

Akoh, C.C. and Min, D.B. 1997. Food Lipids: Chemistry, Nutrition and biotechnology, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, HongKong.

Alsmeyer, R.H., Cunningham, A.E. and Happich, M.L. 1974. Equations predicts PER from Amino Acids Analysis. J. Food Tech. (7). 34-40.

AOAC, 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC International, Gaithersburg. MD.

AOCS, 1996. Official Methods and Recommended Practices, Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats and Waxes, Section I, American Oil Chem Champaign, II.

AOCS. 1980. Am. Oil Chem Soci. Official Methods of analysis.

ASQC, 1987. American National Standards: Definitions, symbols, formulas and tables for control charts. Am. Soc. Quality control, Mil waukee, wis.

Aurand, L.W., Woods, A.E., and Wells, M.R. 1987. Food laws and regulations. Ch. 1, in Food Composition and Analysis, Van Nostrand Reinhold, New York.

Ayi, B.K., Yuhas, D.A. and Deangelis, N.J. 1986. Simultaneous determination of vitamins B2 (riboflavin) and B6 (pyridoxine) in infant formula products by reverse phase liquid chromatography. J. Ass. Off. Analyt. Chem., 69, 56-9.

Ball, G. 1998. Bioavailability and Analysis of Vitamins in Foods. Chapman and Hall London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.

Ball, G.F.M. 1990. The application of HPLC to the determination of low molecular weight sugars and polyhydric alcohols in foods, a review, Food Chemistry 35: 117

Barna, E. and Dworschak, E. 1994. Determination of thiamine (vitamin B1) and riboflavin (vitamin B2) in meat and liver by high-performance liquid chromatography. J. Chromat., A. 668, 359-63.

Beckman Instruments. 1995. The Beckman Handbook of Applied Electrochemistry. Bulletin No. BR. 7793B. Fullerton, CA.

Belitz, H.D., and Grosch, W. 1987. Food Chemistry, Springer Verlag, Berlin.

BeMiller, J.N., and Whistler, R.L. 1996. Carbohydrtes. Ch. 4, in Food Chemistry, 3rd ed., O.R. Fennema (Ed.). Marcel Dekker, New York.

Bernetti, R., Kochan, S.J. and Pienkowski, J.J. (1984). Karl Fischer determination of water in oils and fats: International Collaborative Study. J. AOAC 67, 299-301.

Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. BioChem. Physiol. 37: 911-917.

Boyles, M.J., and Wrolstad, R.E. 1993. Anthocyanin composition of red raspberry juice influences of cultivar proce

ssing, and environmental factors. Journal of Food Science 58: 1135-1141.

Bureau, J.L., and Bushway, R.J. 1986. HPLC determination of carotenoids in fruits and vegetables in the United States. Journal of Food Science 51: 128-130.

Canjura, F.I., and Schwartz, S.J. 1991. Separation of chlorophyll compounds and their olar derivatives by high-performance liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry 39: 1102-1105.

Cavins, J.F., Kwolek, D.R., Inglett, G.E., and Cowen J.C. 1972. Amino acid analysis of soybean meal: Interlaboratory study. Journal of the Association of Official Chemists 55: 686-694.

Chan, H. 1987. Autoxidation of unsaturated lipids. Academic press, London.

Chan, S.; Peterson R. and HO C. 1978. Chemistry of Deep Fat Fried Flavour. In lipids as source of flavour (Ed. Surpan M.) pp. 18, ACS symposium Series, 75 Washington.

Chaplin, M.F. and Kennedy, J.F. (Ed.). 1994. Carbohydrate Analysis. A practical Approach, 2nd ed. IRI, Press, Oxford, UK.

Chase, G.W., Landen, W.O. Jr, Soliman, A.G.M. and Eitenmiller, R.R. 1993. Method modification for liquid chromatographic determination of thiamine., riboflavin, and pyridoxine in medical foods. J. AOAC Int., 76, 1276-80.

hristie, W.W. 1982. Lipid Analysis. Isolation, Separation. Identification, and Structural Analysis of Lipids, 2nd ed. Pergamon Press, Oxford.

rosby, P.B. 1979. Quality is free. Mentor Books, New York.

ross, H.R. 1996. HACCP pivotal change for the meat industry. Food Tech. 50(8): 236.

zuchajowska, Z., Pomeranz, Y. and Jeffers, H.C. 1989. water activity and moisture content in dough and bread. Chem. 66: 128-132.

awson, K.R., Unklesbay, N.F. and Hedrick, H.B. 1988. HPLC determination of riboflavin, niacin, and thiamin in beef, pork, and lamb after alternate heat-processing methods. J. Agric. Food Chem. 36, 1176-9.

ibois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28: 350.

ipey, H.P., and Fore, S.P. 1970. Determination of residual solvent in oilseed meals and flours: Volatilization

Society 47: 231-233.

.enmiller, R.R., and DeSouza, S. 1985. Niacin, in Methods of Vitamin Assay, 4th ed., J. Augustin, B.P. Klein, D.A. Becker, and P.B. Venugopal (Eds), 389-392 and 393-397. John Wiley & Sons, New York.

·Kalyoubi, M.H. 1981. Physico-chemical studies on the Oils of Some Nile Fish. Ph.D. Thesis Food Sci., Fac. Agric., Ain Shams Univ., Cairo Egypt.

El-Samkary, M.A., Yousif, E.I., El-Shatanovi, G.A. and Abd El-Razik, M.M. 1997. Application of hazard analysis critical control points (HACCP) programs in poultry meat. Proceeding of International Conf. for food industries Quality control. Alex. Egypt.

FAO/WHO. 1990. Protein Quality Evaluation Report of the Joint FAO/WHO Expert Consulation on Protein Quality Evaluation. Held in Bethesda, MD, Dec. 4-8, 1989. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.

FAO/WHO. 1992. Codex Alementarius. 2nd ed, Vols. 1-13. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization. Rome, Italy.

Feliman, J.K., Artz, W.E., and Tassinari, P.D. 1982. Simultaneous determination of thiamin and riboflavin in selected foods by high-performance liquid chromatography. J. Food Sci., 47, 2048-2067.

Fennema, O.R., 1976. Principle of Food Science. Part 1, Food Chemistry. Marcel Dekker, Inc.

Fernando, S.M. and Murphy, P.A. 1990. HPLC determination of thiamin and riboflavin in soybeans and tofu. J. Agric. Food Chem., 38, 163-7.

Finglas, P.M. and Faulks, R.M. 1984. The HPLC analysis of thiamin and riboflavin in potatoes. Food Chem., 15, 37-44.

Friedman, M. 1996. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry 44: 6-29.

Fritsch, C.W., and Gale, J.A. 1977. Hexanal as a measure of rancidity in low fat foods. Journal of the American Oil

Fulks, F.T. 1991. Total Quality Management. Food Tech. 45 (6): 96-100.

Giese, J. 1993. In-line sensors for food processing. Food Technology 47 (5): 87-95.

Golomski, W.A. 1993. Total Quality Management and Food Industry. Why is it important? Food Tech. 47(5): 74-79.

Golomski, W.A. 1994. ISO 9000-The global perspective. Food Technology 48(12): 57-59.

Gray, J.I. 1978. Measurement of lipid oxidation: A review.
iety 55: 539-
546.

Hagg, M. 1994. Effect of various commercially available enzymes in the liquid chromatographic determination with external standardization of thiamine and riboflavin in foods. J. AOAC Int., 77, 681-6.

Hamilton, R.J. and Rossell, J.B. 1986. Analysis of Oils and Fats. Elsevier Applied Science, London.

Hanahan, D.J., Brock erhoff, H. and Barron, E.J. 1960. The site of attack of phospholipids (lecithinase) A on lecthin: A re-evaluation, position of fatty acids on lecithin and triglycerides. J. Biol. Chem. 235: 1917.

Harris, D.C. 1995. Quantitative chemical Analysis, 4th ed., W. Freeman, New York.

Hasselmann, C., Franck, D., and Grimm, P. 1989. High-performance liquid chromatographic analysis of thiamin and riboflavin in dietetic foods. J. Micronutr. Anal, 5, 269-79.

Hawthorne, S.B., Galy, A.B., Schmitt, V.O., and Miller, D.J. 1995. Effect of SFE flow rate on extraction rates: Classifying sample extraction behavior Analytical Chemistry 67: 2723-2732.

Hicks, K.B. 1988. High-performance liquid chromatography of carbohydrates. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry 46: 17.

Hsu, H.W., Satterlee, L.D., and Miller, G.A. 1977. A multi-enzyme technique for estimating protein digestibility. Journal of Food Science 42: 1269-1273.

Huang, A.S., and von Elbe, J.H. 1985. Kinetics of the degradation and regeneration of betanine. Journal of Food Science 50: 1115-1120, 1129.

5th ed. John Wiley & Sons, New York.

Internation Organization for Standardization. 1996. ISO 9000 International Standards for Quality Management, 6th ed. International Organization for Standardization, New York.

IUPAC, 1979. Standard Methods for the analysis of oils, fats and drivatives 6th ed. C. paquot (ed). Pergamon press, New York.

IUPAC, 1987. Standard Methods for Analysis of Oils, Fats, and Derivatives, 7th ed. and supplements. International Union of Pure and Applied Chemistry, Commission on Oils, Fats and Derivatives, C. Paquot and A. Hautfenne (Eds). Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Jacobs, M.B. 1962. The chemical analysis of food and food products. 3rd ed. D. Van Nastrand, Toronto, New York, London.

JECFA. 1992. Compendium of Food Additive Specifications, Volts. 1 and 2 with supplements. Joint FAO/WHO Committee on Food Additives (JECFA). 1956-1990. FAO Food and Nutrition Paper 52/1&2 with supplements. Rome, Italy.

Josyln, M.A. 1970. Methods in Food Analysis, 2nd ed. Academic Press, New York.

Kamman, J.F., Labuza, T.P. and Warthesen, J.J. 1980. Thiamin and riboflavin analysis by high performance liquid chromatography. J. Food Sci., 45, 1497-9, 1504.

Kathleen, W. and N. Eskin. 1992. Methods to Assess Quality and Stability of Oils and Fat-containing Foods. AOCS Press Champaign, Illinois.

Khachik, F., Beecher, G.R., and Whittaker, N.F. 1986. Separation, identification and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry 34: 603-616.

King, J.W., Johnson, J.H., and Friedrich, J.P. 1989. Extraction of fat tissue from meat products with supercritical carbon

dioxide. Journal of Agricultural and Food Chemistry 37: 951-954.

Kneifel, W., Ulberth, F. and Winkler-Macheiner, U. 1987. HPLC methods for the simultaneous determination of retinol and tocopherol in butter and whole-milk powder. Deutsche Lebensm. Rundschau, 83, 137-9 (in German).

Lawrence, J.F., Lancaster, F.E., and Conacher, H.B.S. 1981. Separation and detection of synthetic food colors by ion pair high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography 210: 168-173.

Lee, S.C., and Prosky, L. 1995. International survey on dietary fiber, definition, analysis, and reference materials. Journal of AOAC International 78: 22-36.

Lessin, W.J., Catignani, G.L., and Schwartz, S.J. 1997. Quantification of cis trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 3728-3732.

Lopez-Hermande, J., Vazquez-Oderiz, L., Vazquez-Blanco, E., Romero-Rodriquez, A. and Simal-Lozano, J. 1993. HPLC determination of major pigments in the bean Phascolus vulgaris. Journal of Agricultural and Food Chemistry 41: 1613-1615.

Lou, X., Janssen, H.G., and Gramers, C.A. 1997. Parameters affecting the accelerated solvent extaction of polymeric samples. Analytical Chemistry 69(8): 1598-1603.

Lund, D. 1988. Nutritional Evaluation of food processing (E. Karmas and R. Harris eds.) 3rd. pp 319-354. Van Nostrand, New York.

Mauro, D.J. and Wetzel, D.L. 1984. Simultaneous determination of thiamine and ribflavin in enriched cereal based products by high-performance liquid chromatography using selective detection. J. Chromat., 299, 281-7.

Melton, S.L. 1983. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. Food Technology 37(7): 195-111, 116.

Mosse, J. 1990. Nitrogen to protein conversion factor for ten cereals and six legumes or oilseeds. A reappraisal of its definition and determination. Variation according to species and to seed protein content. Journal of Agricultural and Food Chemistry 38: 18-24.

National Academy of Sciences. Food Chemicals Codex, 1996. 4th ed., Food and Nutrition Board, National Research Council, National Academy Press, Washington, DC.

Nawar, W.W. 1996. Lipids, Ch. 5, in Food Chemistry, 3rd ed., pp. 225-319. O.R. Fennema (Ed.). Marcel Dekker, New York.

Nelson, P.E., and Tressler, D.K. 1980. Fruit and Vegetable Juice Process Technology, 3rd ed. AVI Publishing, Westport, CT.

NFPA. 1993. Implementation of HACCP in a food processing plant. Journal of Food Protection 56: 548-554.

Nieson, S.S. 1988. Food Analysis 2[nd] ed. An Aspen Publication. Aspen Publishers. Inc., Gaithersburg, Maryland.

-dimensional electrophoresis of proteins. Journal of Biological Chemistry 250: 4007-4021.

Ollilainen, V., Vahteristo, L., and Uusi-Rauva, A.. 1993. The HPLC determination of total thiamin (vitamin B1) in foods. J. Food Comp. Anal., 516, 152-65.

Panfili, G., Manzi, P. and Pizzoferrato, L. 1994. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of tocopherols, carotenes, and retinol and its geometric isomers in Italian cheeses. Analyst, Lond., 119, 1161-5.

Paterson, G.R., Otter, D.E., and Hill, J.P. 1995. Application of capillary electrophoresis in the identification of phenotypes containing the B-lactoglobulin C variant. Journal of Dairy Science 78: 2637-2644.

Pearson, D. 1976. The chemical analysis of foods. 7th ed. P. 496-497. Churchill Livingstone, Edinbergh, London and New York.

Pelletier, O. 1985. Vitamin C (L-ascorbic and dehydro-L-ascorbic acid), in Methods of Vitamin Assay, 4th ed., J. (Eds.), pp. 334-336, John Wiley & Sons, New York.

Pomeranz, Y. and Melon, C. 1994. Food Analysis: Theory and Practice, 3rd ed. Champan & Hall, New York.

Rees, D.I. 1989. Determination of nicotinamide and pyridoxine in fortified food products by HPLC. J. Micronutr. Anal., 5, 53-61.

Reyes, E.S.P. and Subryan, L. 1989. An improved method of simultaneous HPLC assay of riboflavin and thiamin in selected creal products. J. Food Comp. Anal., 2, 41-7.

Reynolds, S.L. and Judd, H.J. 1984. Rapid procedure for the determination of vitamins A and D in fortified skimmed milk powder using high-performance liquid chromatography. Analyst., Lond., 109, 489-92.

Rhee, K.S., and Watts, B.M. 1966. Evaluation of lipid oxidation in plant tissues. Journal of Food Science 31: 664-668.

Richter, B.E., Jones, B.A., Ezzell, J.L., and Porter, N.L. 1996. Accelerated solvent extraction: A technique for sample preparation. Analytical Chemistry 68 (6): 1033-1039.

Rodricks, J.V. 1996. Safety, Assessment of New Food Ingredients. Food Tech. 50(3): 114-117.

Satterlee, L.D., Marshall, H.F., and Tennyson, J.M. 1979. Measuring protein quality, Journal of American Oil Chemist -109.

Schwartz, S.J., and Lorenzo, T.V. 1990. Chlorophylls in foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 29(1): 1-17.

Schwartz, S.J., and von Elbe, J.H. 1980. Quantitative determination of individual betacyanin pigments by high-performance liquid chromatography. Journal of Agricultural Food Chemistry 28: 540-543.

Schwartz, S.J., and von Elbe, J.H. 1983. Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vergetables. Journal of Food Science 48: 1303-1306.

Schwartz, S.J., Woo, S.L., and von Elbe, J.H. 1981. High-performance liquid chromatography of chlorophylls and their derivatives in fresh and processed spinach. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 29: 533-535.

Sims, A. and Shoemaker, D. 1993. Simultaneous liquid chromatographic determination of thiamin and riboflavin in selected foods. J. AOAC Int., 76, 1156-60.

Snyder, J.L., Grob, R.L., McNally, M.E., and Oostdyk, T.S. 1992. Comparison of supercritical fluid extraction with classical sonication and Soxhlet extractions for selected pesticides. Analytical Chemistry 64: 1940-1946.

Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination, Journal of Biological Chemistry 195: 19.

Southgate, D.A.T. 1969. Determination of carbohydrates in foods. II. Unavailable carbohydrates. Journal of the Science of Food and Agriculture 20: 331-335.

Stancher, B. and Zonta, F. 1983. HPLC of fat-soluble vitamins in cheese. New method for determining the total biological activity of vitamins A and E. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 60, 371-5 (in Italian).

Steinke, F.H., Prescher, E.E., and Hopkins, D.T. 1980. Nutritional evaluation (PER) of isolated soybean protein and combinations of food proteins. Journal of Food Science 45: 323-327.

Surak, I.G., and Simpson, K.E. 1994. Using ISO 9000 standards as a quality framework Food Technology 48(12): 63-65.

Surak, J.G. and Mc Anelly, J.K. 1992. Educational programs in Quanlity for the food processing industry. Food Tech. 46 (6): 80-90.

Surrey, K. 1964. Spectrophotometric method for determination of lipoxidase activity. Plant Physiology 39: 65.

Suzanne Nielsen, S. (Ed.). 1998. Food Analysis 2nd ed. An Aspen Publication, Aspen Publisher, Inc., Gaithersburg, Maryland.

Swallow, K.W., and Low, N.H. 1990. Analysis and quantitation of the carbohydrates in honey using high-performance liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry 38: 1828.

Swedberg, S. 1997. Capillary Electrophoresis: Principles and applications. Ch. 9 in: Instrumental Methods in Food Analysis, J.R.J. Pare and J.M.R. Belanger (Eds.) pp. 367-394, Elsevier Science, New York.

Takeoka, G.R., Dao, L.T., Full, G.H., Wong, R.Y., Handen, L.A, Edwards, R.H. and Berrios J.D.J. 1997. Characterization of black bean (Phaseolus vulgaris L.) anthocyanins Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 3395-3400.

Taylor, S.L., King, J.W., and List, G.R. 1993. Determination of oil content in oilseeds by analytical supercritical fluid

Society 70(4): 437-439.

Theander, O. and Westerlund, E. 1986. Studies on dietary fiber, 3. Improved procedures for analysis of dietary fiber. J. of Agric. And Food Chem. 34: 330-336.

Timberlake, C.F., and Bridle, P. 1971. The anthocyanins of apples and pears: The occurrence of acyl derivatives. Journal of the Science of Food and Agriculture 22: 509-513.

Torten, J., and Whitaker, J.R. 1964. Evaluation of the biuret and dye-binding methods for protein determination in meats, Journal of Food Science 29: 168-174.

US, Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 1997. USDA Nutrient Database for Standard References, Release 11-1 Nutrient Data Laboratory Home. Page, hhttp., //www.nal.usda.gov/fnic/food comp.

Vernon, L.P. 1960. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts. Analytical Chemistry, 32: 1144-1150.

Wang, H., Nair, M.G., Iezzoni, A.F., Strasburg, G.M., Booren, A.M., and Gray, J.I. 1997. Quantification and chracterization of anthocyanins in balaton tart cherries. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 2556-2560.

Weber, K., and Osborn, M. 1969. The reilability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. Journal of Biological Chemistry 244: 4406-4412.

Wehling, R.L. and Wetzel, D.L., 1984. Simultaneous determination of pyridoxine, riboflavin, and thiamin in fortified cereal products by high-performance liquid chromatography. J. Agric. Food Chem., 32, 1326-31.

White, P.J. 1991. Methods for measuring changes in deep-fat frying oils. Food Technology 45(2): 75-80.

Wickroski, A.F. and McLean, L.A. 1984. Improved reverse phase liquid chromatographic determination of vitamins A and D in fortified milk. J. Ass. Off. Analyt. Chem., 67, 62-5.

Widicus, W.A. and Kirk, J.R. 1979. High performance liquid chromatographic determination of vitamins A and E in cereal products. J. Ass. Off. Analyt. Chem., 62, 637-41.

Williams, A.P. 1988. Determination of amino acids. In HPLC in Food Analysis, 2nd ed. R MacRase (Ed.), pp. 441-470. Academic Press, Boca Raton, FL.

Williams, D.C., Lim, M.H., Chen, A.O., Pangborn, R.M. and Whitaker, J.R. 1986. Blanching of vegetables for freezing-Which indicator enzyme to use. Food Technology 40(6): 130.

Wills, R.B.H., Wimalasiri, P. and Greenfield, H. 1985. Comparative determination of thiamin and riboflavin in foods by high-performance liquid chromatography and fluorometric methods. J. Micronutr. Anal., 1, 23-9.

Wimalasiri, P. and Wills, R.B.H. 1985. Simultaneous analysis of thiamin and riboflavin in foods by high-performance liquid chromatography. J. Chromat., 318, 412-16.

Wong, D.W. 1989. Mechanism and Theory in Food Chemistry. AVI., Van Nostrand Reinhold, New York.

World Health Organization. 1985. Energy and Protein Requirements. Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. WHO Tech. Rept. Ser. No. 724. World Health Organization, Geneva, Swizerland.

Young, V.R., and Pellett, P.L. 1991. Protein evaluation, amino acid scoring and the Food and Drug Administration. Food Labeling Regulations. J. Nutrition, 121: 145-150.

Zamarreno, M.M.D., Perez, A.S., Perez, C.G. and Mendez, J.H. 1992. High-performance liquid chromatography with electrochemical detection for the simultaneous determination of vitamin A., D3 and E in milk. J. Chromat., 623, 69-74.

Zhang, Q., Cavalieri, R.P., Powers, J.R., and Wu, J. 1991. Measurement of lipoxygenase activity in homogenized green bean tissue. Journal of Food Science 56: 719.

ملاحق الكتاب

APPENDICES

- بعض الاختصارات العلمية المستخدمة فى مجال تحليل الأغذية ومنتجاتها .
- بعض العلاقات والتحويلات المستخدمة فى مجال تحليل الأغذية ومنتجاتها .
- طرق تحليل الفيتامينات .
- بعض الأمثلة الخاصة بجداول تحليل الأغذية .

قائمة بالرموز والاختصارات الهامة فى مجال تحليل الاغذية
List of Abbreviations

%	Percent
A	Absorbance
A	acetylenic group
AACC	American Association of Cereal Chemists
AAS	Atomic absorption spectroscopy
AAS	Amino acids score
ABTS	-azino-d-(3-ethyl-benzthiazoline sulfonate)
AC	alternating current
ACM	alkaline contaminant materials
ADC	analog-to-digital converter
ADP	adenosine- -diphosphate
ADP	Adinosine diphosphate
AES	atomic emission spectroscopy
AI	artificial intelligence
AMS	Agricultural Marketing Service
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AOCS	
AOM	active oxygen method
APCI	atmospheric pressure chemical ionization
APHA	American Public Health Association
ART-FTIR	attenuated total reflection-Fourier transform infrared
ASCII	American Standard for Information Interchange
ASE	accelerated solvent extraction
ASTM	American Soceity for Testing Materials
ATIC	American Type Culture Collection
ATP	adenosine- -triphosphate
ATP	Adinosine Tri phosphate

ATR	attenuated total reflectance
BCA	bicinchoninic acid
BCD	binary coded decimal
BCR	Community Bureau of Reference
Bc	Baumc modulus
BGG	bovine gamma globulin
BHA	butylated hydroxyanisole
BHT	butylated hydroxytoluene
BOD	biochemical oxygen demand
Br	Branched
BSA	bovine serum albumin
BSDA	*Bacillus streothermophilis* disk assay
BV	biological value
C	Concentration
C	Cis
CAST	calf antibiotic and sulfa test
CDC	Centers for Disease Control
CER	Code of Federalo Regulations
Cf	commercial factorq
CGMP	Current Good Manufacturing Practices
CI	chemical ionization
CI	confidence interval
CID	charge injection device
CID	Commercial Item Description
CIE	
CLND	chemiluminscent nitrogen detector
CMC	critical micelle concentration
CNBr	cyanogen bromide
C^{o}	Centigrade
CO	Omga

COD	chemical oxygen demand
C-PER	calculated protein efficiency ratio
CPMG	Carr Purcell Meiboom Gill
CPU	central processing unit
CQC	2,6-dichloroquinonechloroimide
CV	cofficient of variation
CVM	Center for Veterinary Medicine
CW	continuous wave
DAL	defect action level
DC	direct current
DC	dielectric constant
DC	Dissociation constant
DC-PER	discriminant calculated protein efficiency ratio
DE	degree of esterification
DEC	Digital Equipment Corporation
DF	Dietary fibre
DHHS	Department of Health and Human Services
DMD	D-malate dehydrogenase
DMSO	dimethyl solfoxide
DMTA	dynamic mechanical thermal analysis
DNFB	1-fluoro-2,4-dinitrobenzene
DNP	Dinitrophenyl
DRV	Daily Reference Value
DSC	differential scanning colorimetry
DSHEA	Dietary Supplement Health and Education Act
DTA	differential thermal analysis
DTNB	-thiobis-2-nitrobenzoic acid
Dwb	dry weight basis
E	ethylenic group
EAAI	Essential amino acids index

EC	electrical conductivity
ECD	electron capture detector
EDS	energy dispersive spectroscopy
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
EEC	European Economic Community
EFA	Essential fatty acids
EI	electron impact
EIA	enzyme immunoassay
ELCD	electrolytic conductivity detector
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
EMF	electromotive force
EMS	environmental management system
EPA	Environmental Protection Agency
EPR	electron paramagnetic resonance
Eq	Equivalent
ERH	equilibrium relative humidity
ES	emulsion stability
ESA	electrokinetic sonic amplitude
ESI	electrospray interface
ESR	electron spin resonance
FFA	Free fatty acids
FOS	food oil sensor
FR	free radical
FS	foaming stability
GLC	Gas liquid chromatography
HCCP	hazard analysis critical control point
HPLC	High per formance liquid chromatography
IEC	ion exchange chromatography
IEP	Isoelectric point
IR	Infra-red

ISO	international standards organization
IV	iodine value
M	Molarity
MC	moisture content
N	Normality
NAS	National Academy Science
NB	Nitrogen balance
NIST	National Institute of Standards and Technology
NLEA	Nutrition Labeling and Education Act
NMPS	National Marine Fisheries Service
NMR	nuclear magnetic resonance
NMR	nucleic magnetic resonance
NOAA	National Oceanic and Atmospheric Administration
NPD	nitrogen phosphorus detector or thermionic detector
NPR	net protein ratio
NPR	Net protein ratio
NPU	net protein utilization
NRC	National Research Council
NSSP	National Shellfish Sanitation Program
O/w	oil-in-water
O/w/o	oil-in-water-in-oil
OCI	Organochlorines
ODS	Octadecylsilyl
OP	Organophosphate
OPA	0-phthalaldehyde
ORD	Optical ratary disperssion
OSI	oil stability index
PAGE	polyacrylanide gel electrophoresis
PAM I	Pesticide Analytical Manual, Volume I
PAM II	Pesticide Analytical Manual, Volume II

PC	paper chromatography
PCBs	polychlorinated biphenyls
PCR	principal components regression
PCS	rapid scan correlation
PD	protein digestability
PDCAAS	protein digestibility-corrected amino acid score
PER	protein efficiency ratio
PFGSE	pulsed field gradient spin echo
PI	isoelectric point
PID	photoionization detector
PLS	partial least squares
PMO	Pasteurized Milk Ordinance
PMT	photomultiplier tube
Ppb	parts per billion
Ppm	part per million
PRAR	Rebuttable Presumption Against Registration
PteGln	Pteroylglutamate
PUFA	polyunsaturated fatty acids
PV	peroxide value
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidone
QA	quality assurance
QC	quality control
QS	quality system
R	Radical
RAC	raw agricultural commodity
RDA	recommended daily allowance
RDI	Reference Daily Intake
RF	Radiofrequency
Rf	Rate of flow
RGB	red green blue

RI	refractive index
RI	Refractive index
RIA	Radioimmunoassay
Rm	Rate of migration
RP	Reducing power
Rpm	revolutions per minute
RRT	relative retention time
Rt	Retension time
S	Saturation
S/L	solid/liquid
SASO	Saudi Arabian Standards Organization
SD	standard deviation
SDS	sodium dodecyl sulfate
SDS-PAGE	sodium dodecal
SE	standard error of the mean
SEC	size-exclusion chromatography
SEF-GC	supercritical fluid extraction-gas chromatography
SEM	scanning electron microscopy
SFC	solid fat content
SFC	supercritical-fluid chromatography
SFE	supercritical fluid extraction
SFI	solid fat index
SI	solubility index
SIM	selected ion monitoring
SNF	solids-not-fat
SNIF-NMR	site-specific natural isotope fractionation-NMR
SO	sulfite oxidase
SPE	solid-phase extraction
SPME	solid-phase microextraction
SQC	statistical quality control

SRMs	single residue methods
STOP	swab test on premises
T	Trans
TBA	thiobarbituric acid
TBA	thiobarbutric acid
TBARS	TBA reactive substances
TC	Thermal conductivity
TCD	thermal conductivity detector
TE	tocopherol equivalents
TEMED	Tetramethylethylenediamine
TGA	thermogravimetric analysis
TIC	total ion current
TLC	thin-layer chromatography
TLC	thin layer chromatography
TMA	thermomechanical analysis
TMCS	Trimethylchlorosilane
TMS	Trimethylsilyl
TNBS	trinitrobenzenesulphoric acid
TOC	total organic carbon
TOF	time-of-flight
TPA	texture profile analysis
TS	total solids
TS-MS	thermospray-mass spectrometry
TSP	Thermospray
TSS	total soluble solids
TSUSA	Tariff Schedules of the United States of America
TTA	total titratable acidity
US	Unsaturation
USCS	United States Customs Service
USDA	United States Department of Agriculture

USRDA	United States Recommended Dietary Allowance
UV	Ultraviolet
UV-Vis	ultraviolet-visible
Vis	Visible
VPP	vegetable protein product
W/o/w	water-in-oil-in-water
Wa	water activity
Wwb	wet weight basis

Standard Single Letter Notations And Abbreviations For The Well Known Amino Acids

Amino Acids and Their Previous / New Abbreviations

Alanine	Ala	A	Asparagine	Asn	N
Cysteine	Cys	C	Proline	Pro	P
Aspartic acid	Asp	D	Glutamine	Gln	Q
Glutamic acid	Glu	E	Arginine	Arg	R
Phenylalanine	Phe	F	Serine	Ser	S
Glycine	Gly	G	Threonine	Thr	T
Histidine	His	H	Valine	Val	V
Isoleucine	Ile	I	Tryptophan	Trp	W
Lysine	Lys	K	Tyrosine	Tyr	Y
Leucine	Leu	L	Glutamate or		
Methionine	Met	M	Glutamine	Glx	Z

بعض العلاقات والتحويلات المستخدمة فى مجال تحليل الأغذية

The International System of Units (SI)

Quantity	*Unit*	*Symbol*
Length	Metre	M
Mass	Kilogramme	Kg
Time	Second	S
electric current	Ampere	A
Temperature	Kelvin	K
luminous intensity	Candela	Cd

Prefixes for SI Units

Fraction	**Prefix**	**Symbol**
10^{-1}	Deci	D
10^{-2}	Centi	C
10^{-3}	Milli	M
10^{-6}	Micro	U
10^{-9}	Nano	N
10^{-12}	Pico	P
10^{-15}	Femto	F
10^{-17}	Atto	A

Fraction	**Prefix**	**Symbol**
10	Deka	Da
10^{2}	Hecto	H
10^{3}	Kilo	K
10^{6}	Mega	M
10^{9}	Giga	G
10^{12}	Tera	T
10^{15}	Peta	P
10^{18}	Exa	E

Recommended Values of Physical Constants

Physical constant	**Symbol**	**Value**
acceleration due to gravity	g	9.81 m s^{-2}
Avogadro constant	N_A	6.022 05 x 10^{23} mol^{-1}
Boltzmann constant	k	1.380 66 x 10^{-23} J K^{-1}
charge to mass ratio	e/m	1.758 796 x 10^{11} C kg^{-1}
electronic charge	e	1.602 19 x 10^{-19} C
Faraday constant	F	9.648 46 x 10^{4} C mol^{-1}
gas constant	R	8.314 J K^{-1} mol^{-1}
-	T_{ice}	273.150 K exactly
molar volume of ideal gas (stp)	Vm	2.241 38 x 10^{-2} m^3 mol^{-1}
permittivity of a vacuum	ε_0	8.854 188 x 10^{-12} kg^{-1} m^{-3} s^4 A^2 (F m^{-1})
Planck constant	h	6.626 2 x 10^{-34} J s
standard atmosphere pressure	p	101 325 N m^{-2} exactly
atomic mass unit	m_u	1.660 566 x 10^{-27} kg
speed of light in a vacuum	c	2.997 925 x 10^{8} m s^{-1}

APPROXIMATE STRENGTHS OF CONCENTRATED ACIDS AND AMMONIA

	Concentration	*Weight per ml at 20oC*	*Normality (approx)*
	% m/m	g	N
Ammonia (0.88)	35	0.88	21
Hydrochloric acid (conc)	36	1.18	10
Nitric acid (conc)	70	1.41	11
Sulphuric acid (conc)	98	1.84	20

Energy calculation

Caloric conversion factors (Kcal/g)

	Labelling of Food Regulations	*McCance and Widdowson*	*Rubner*	*Atwater*
Carbohydrate	3.75	3.75	4.1	4.0
Glycitol	3.75	-	-	-
Protein	4.00	4.1	4.1	4.0
Alcohol	7.0	-	-	-
Fat	9.0	9.3	9.3	9.0

Alternative Merthods of Expressing Various Physical Quantities

1. Mass (SI unit: kg)

g	$= 10^{-3}$ kg
mg	$= 10^{-3}$ g $= 10^{-6}$ kg
μg	$= 10^{-6}$ g $= 10^{-9}$ kg

2. Length (SI unit: m)

cm	$= 10^{-2}$ m
A	$= 10^{-10}$ m
nm	$= 10^{-9}$ m $= 10$ A
pm	$= 10^{-12}$ m $= 10^{-2}$ A

3. Volume (SI unit: m^3)

l	$=$ dm^3 $= 10^{-3}$ m^3
ml	$=$ cm^3 $= 10^{-6}$ m^3
μl	$= 10^{-3}$ cm^3

4. Concentration (SI units: mol m^{-3})

M	$=$ mol l^{-1} $=$ mol dm^{-3} $= 10^3$ mol m^{-3}
mg l^{-1}	$=$ μg cm^{-3} $=$ ppm $= 10^{-3}$ g dm^{-3}
μg g^{-1}	$=$ ppm $= 10^{-6}$ g g^{-1}
ng cm^{-3}	$= 10^{-6}$ g dm^{-3}
ng dm^{-3}	$=$ pg cm^{-3}
pg g^{-1}	$=$ ppb $= 10^{-12}$ g g^{-1}
mg %	$= 10^{-2}$ g dm^{-3}
μg %	$= 10^{-5}$ g dm^{-3}

5. Pressure (SI unit: N m^{-2} = kg m^{-1} s^{-2})

Pa	$=$ Nm^{-2}
atmos	$= 101\ 325$ N m^{-2}
bar	$= 10^5$ N m^{-2}
torr	$=$ mmHg $= 133.322$ N m^{-2}

6. Energy (SI unit: J = kg m^2 s^{-2})

cal	$= 4.184$ J
erg	$= 10^{-7}$ J
eV	$= 1.602 \times 10^{-19}$ J

METRIC EQUIVALENTS

Linear Measure

1 centimeter = 0.3937 in.	1 in. = 2.54 centimeters
1 decimeter = 3.937 in. = 0.328 feet	1 fet. = 3.048 decimeters
1 meter = 39.37 in. = 1.0936 yards	1 yard = 0.9144 meter
1 dekameter = 1.9884 rods	1 rod = 0.5029 dekameter
1 kilometer = 0.62137 mile	1 mile = 1.6093 kilometers

Square Measure

1 sq. centimeter = 0.1550 sq. in.	1 sq. inch = 6.452 sq. centimeters
1 sq. decimeter = 0.1076 sq. ft.	1 sq. foot = 9.2903 sq. decimeters
1 sq. meter = 1.196 sq. yd.	1 sq. yd. = 0.8361 sq. meter
1 acr = 3.954 sq. rods	1 sq. rod = 0.2529 acre
1 hektar = 2.47 acres	1 acre = 0.4047 hektar
1 sq. kilometer = 0.386 sq. m.	1 sq. m. = 259 sq. kilometers

Measure of Volume

1 cu. centimeter = 0.061 cu. in.	1 cu. in. = 16.39 cu. Centimeters
1 cu. decimeter = 0.353 cu. ft.	1 cu. ft. = 28.317 cu. Decimeters
1 cu. meter = 1.308 cu. Yd.	1 cu. yd. = 0.7646 cu. Meter
1 stere = 0.2759 cord	1 cord = 3.642 steres
1 liter = 0.908 dry	1 qt. dry = 1.101 liters
1 liter = 1.0567 q. liq.	1 qt. liquid = 0.9463 liter
1 dekaliter = 2.6417 gal.	1 gal. = 0.3785 dekaliter
1 dekaliter = 0.135 peck.	1 peck = 0.881 dekaliter
1 hektoliter = 2.8375 bu.	1 bu. = 0.3524 hektoliter

Weights

1 gram = 0.03547 ounce	1 ounce = 28.35 grams
1 kilogram = 2.2046 lbs.	1 lb. = 0.4536 kilogram
1 metric ton = 1.1023 English ton	1 English ton = 0.9072 metric ton
	1 kilogram = 1.000 grams

Approximate Metric Equivalents

1 decimeter = 4 inches	1 metric ton = 2.200 lbs
1 meter = 1.1 yards	1 liter = 1.06 qt. Liquid
1 kilometer = 5/8 mile	1 liter = 0.9 qt. Dry
1 hektar = 2 1/2 acres	1 hektoliter = 2 5/8 bushel
	1 kilogram = 2 1/5 lbs.

CONVERSION OF COMMON UNITS TO EQUIVALENTS

Length

1 ft	= 0.3048 m
1 in	= 25.4 mm = 2.54 cm

Area

1 ft^2(square foot)	= 0.092 903 0 m^2 = 929. 030 cm^2
1 in^2 (square inch)	= 645.16 mm^2 = 6.451 6 cm^2

Volume

1 ft^2 (cubic foot)	= 0.028 316 m^3 = 28.316 8 dm^3
1 in^2 (cubic inch)	= 16.387 1 cm^3

Capacity

1 gal	= 4.546 09 dm^3 = 4.546 litres
1 USgal	= 3.785 410 dm^3 = 3.785 litre
1 gill	= 0.142 065 dm^3 = 0.142 litre
1 ft oz	= 28.413 cm^3
1 fluid drachm	= 3551.63 mm^3 = 3.551 63 cm^3
1 minim	= 59.193 9 mm^3

Mass

1 ton	= 1016.05 kg = 1.016 05 t
1 cwt	= 50.802 3 kg
1 stone	= 6.350 29 kg
1 lb	= 0.453 592 37 kg
1 oz	= 28.349 5 g
1 dr (dram)	= 1.771 85 g
1 gr (grain)	= 64.798 9 mg
1 oz apoth = 1 oz tr	= 31.103 5 g
1 drachm	= 3.887 93 g

Temperature

$^{\circ}$C: $\theta = 5/9\ (t - 32)$

K : $T = 5/9\ (t + 459.67)$

$^{\circ}$R: $r = t + 459.67$

t = Temperature on Fahrenheit scale

r = Temperature on rankine scale ($^{\circ}$R) i.e. absolute Fahrenheit

T = Temperature on kelvin scale

θ = Temperature on Celsius scale ($^{\circ}$C)

The zero on the Celsius scale is the ice-point (273.15 K)

Energy

1 cal_{15} (15° calorie) = 4.185 5 J

J = 1 joule (unit of energy)

PREPARATION OF SOLUTIONS FOR VOLUMETRIC ANALYSIS

Ammonium thiocyanate NH_4SCH, 76.12

0.1 N = 0.1 M = 7.612 g per litre

Hydrochloric acid HCl, 36.46 g

0.1 N = 0.1 M = 3.646 g per litre

Iodine I, 126904

0.1 N = 0.1 M = 12.69 g I + 18 g KI per litre

Potassium dichromate $K_2Cr_2O_7$, 294 24

0.1 N = M/60 = 4.903 g per litre

Potassium iodate KIO_3, 214 02

Nomality depends on the reaction employed, but commonly 0.1 N = M/60. If acidity of reaction exceeds 4 N, then 0.1 N iodate = M/40.

Potassium permanganate $KMnO_4$, 158.0

0.1 N = 0.02 M = 3.161 g per litre

Potassium thiocyanate KSCN, 97.185

0.1 N = 0.1 M = 9.7185 g per litre

Silver nitrate $AgNO_3$, 169.9

0.1 N = 0.1 M = 16.99 g per litre

Sodium edetate $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$, $2H_2O$, 372.25

0.05 M = 18.61 g per litre

Sodium hydroxide NaOH, 40.00

0.1 N = 0.1 M = 4.000 g per litre

Sodium thiosulphate $Na_2S_2O_3$, $5H_2O$, 248.2

0.1 N = 0.1 M = 24.82 g per litre

Sulphuric acid H_2SO_4, 98.08

0.1 N = 0.05 M = 4.904 g per litre

Density (g/mL) of H_2O at Different Temperatures (°C)

Temperature	Density	Temperature	Density	Temperature	Density
15	[illegible]	32	[illegible]	49	0.98852
16	[illegible]	33	[illegible]	50	0.98807
17	[illegible]	34	[illegible]	51	0.98762
18	[illegible]	35	[illegible]	52	0.98715
19	[illegible]	36	[illegible]	53	0.98669
20	[illegible]	37	[illegible]	54	0.98621
21	[illegible]	38	[illegible]	55	0.98573
22	[illegible]	39	[illegible]	56	0.98525
23	[illegible]	40	[illegible]	57	0.98475
24	[illegible]	41	[illegible]	58	0.98425
25	[illegible]	42	[illegible]	59	0.98375
26	[illegible]	43	[illegible]	60	0.98324
27	[illegible]	44	[illegible]	61	0.98272
28	[illegible]	45	[illegible]	62	0.98220
29	[illegible]	46	[illegible]	63	0.98162
30	[illegible]	47	[illegible]	64	0.98113
31	[illegible]	48	[illegible]	65	0.98059

Filters for Spectrophotometry

Wavelength (nm)	*Colour*	*Colour Observed*
400	Violet	Greenish Yellow
425	Indigo Blue	Yellow
450	Blue	Orange
490	Blue Green	Red
510	Green	Purple
530	Yellow Green	Violet
550	Yellow	Indigo Blue
590	Orange	Blue
640	Red	Bluish Green
730	Deep Red	Green

ILFORD SPECTRUM FILTERS

No.	*Colour of Filter*	*Peak Wavelength (nm)*	*Transmission Region (nm)*
600	Spectrum Deep Violet	405	380-450
601	Spectrum Violet	425	380-470
602	Spectrum Blue	470	440-490
603	Spectrum Blue-Green	490	470-520
604	Spectrum Green	520	500-540
605	Spectrum Yellow-Green	550	530-570
606	Spectrum Yellow	580	560-610
607	Spectrum Orange	600	575 onwards with absorption increasing from 600
608	Spectrum Red	660	620 into intra-red
609	Spectrum Deep Red	690	650 into intra-red
621	Bright Spectrum Violet	445	340-515
622	Bright Spectrum Blue	470	375-530
623	Bright Spectrum Blue-Green	490	460-545
624	Bright Spectrum Green	520	490-575
625	Brighter Spectrum Yellow-Green	540	510-590
626	Bright Spectrum Yellow	575	545-620

1 millimicron (mμ) = 1 nanometre (nm) = 10^{-6} mm = 10 A.

Clrifying	ترويق	Flavouring agents	مواد نكهة
Foaming	انتاج رغوة	Flavour enhancing	اظهار نكهة
Leavening	مواد رفع	Colouring agents	مواد ملونة
Buffering	مواد منظمة	Colour retaining	المحافظة على اللون
Peeling	تقشير	Sweeteners	مواد محلية
Plastizing	مواد لاحمة	Bleaching	قصر لون
Preservator	حافظة	Texturizing	مكسبات قوام
Antioxidants	مضادة للاكسدة	Thickening	مكسبات تخانة
Neutralizing	تعادل	Creaming	اكساب قوام القشدة
Acidifying	تحميض	Fitining	الصلابة
Alkalizing	قلوية	Drying	تجفيف
Glazing	تزجيج	Whipping	خفق
Maturing	انضاج (عجائن)	Conditioning	تكييف
Chill-proofing	مقاومة للتبريد	Sterilizing	تعقيم
Anti-caking	مقاومة للتكتل	Dissolving	اذابة
Anti-drying	مقاومة للجفاف	Enriching	تدعيم
Anti-foaming	مانعة للغوة	Emulsifying	استحلاب
Anti-hardening	مانعة للتصلب	Dispersing	انتشار
Anti-scattering	مقاومة للتشتت	Curing	انضاج
Anti-sticking	مقاومة للتلاصق	Stabilizing	تثبيت
Lining-containers	تبطين العبوة	Pressure-dispersing	موزعة ضغط
Air-replacing	احلال هواء	Refining	تكرير
Water-rataining	منظمات رطوبة	Sequestering	مزيلات ايونات مدنية
Water proofing	المحافظة على الرطوبة	Supplementing	تدعيم مغذيات

Calculation table for 10 & 25 ml. of Fehling-solution (Lane and Eynon).

(Weights in milligrams of invert sugar reducing sugar Per 100 ml. of solution

Sugar sol.	Dextrose		Levulose		Anhydrous Maltose		Invert Sugar (Sucrose Og.)	
ml	10 ml	25 ml	10 ml	25 ml	10 ml	25 ml	10 ml	25 ml
15	327.5	801.0	348.0	849.0	515.0	1319.0	336.0	824.0
16	307.0	751.0	327.0	796.0	482.0	1233.0	316.0	772.0
17	289.0	707.0	308.0	750.0	453.0	1159.0	298.0	727.0
18	274.0	558.0	291.0	708.0	427.0	1093.0	282.0	687.0
19	260.0	633.0	276.0	672.0	405.0	1034.0	267.0	651.0
20	247.4	601.5	262.5	638.0	383.8	980.7	254.5	619.0
21	235.8	572.9	250.6	608.1	365.1	932.5	242.9	589.5
22	225.5	547.3	239.6	580.6	348.1	888.7	321.8	563.2
23	216.1	523.6	299.1	555.5	332.5	848.5	222.2	538.7
24	207.4	501.9	220.0	532.5	318.3	811.8	213.3	516.7
25	199.3	482.0	211.3	511.5	305.4	778.1	204.8	496.0
26	191.8	463.7	203.3	491.9	293.4	747.0	197.4	477.3
27	184.9	446.8	196.0	474.0	282.2	718.2	190.4	459.7
28	178.5	431.1	189.3	457.2	271.8	691.5	183.4	443.6
29	172.5	416.4	183.1	441.6	262.2	666.6	177.6	420.3
30	167.0	402.7	177.2	427.0	253.3	643.4	171.7	414.3
31	161.8	389.7	171.7	413.3	244.9	621.6	166.3	401.0
32	156.9	377.6	166.5	400.5	237.2	604.1	161.2	388.7
33	152.4	366.3	161.6	388.5	299.8	582.4	156.6	377.0
34	148.0	355.6	157.0	377.3	222.9	564.6	152.2	366.2
35	143.9	345.6	152.6	366.7	216.2	547.7	147.9	355.8
36	140.0	366.3	148.6	356.6	210.0	531.7	143.9	346.1
37	136.4	327.4	144.7	347.0	204.3	516.7	140.2	366.8
38	132.9	318.8	140.9	388.1	198.7	502.5	136.6	328.1
39	129.6	310.7	137.3	329.6	193.6	489.0	133.3	319.7
40	126.5	303.1	134.0	321.5	188.6	476.2	130.1	311.9
41	123.6	295.9	130.9	313.7	184.3	464.1	127.1	304.4
42	120.8	289.0	127.9	306.2	179.4	452.5	124.2	297.3
43	118.1	282.4	125.1	299.2	175.1	441.5	121.4	290.5
44	115.5	276.1	122.4	292.5	171.0	430.9	118.7	284.1
45	113.0	270.1	119.8	286.2	167.1	420.9	116.1	277.9
46	110.6	264.3	117.2	280.0	163.4	411.4	113.7	272.0
47	108.4	258.8	114.7	274.2	159.9	402.4	111.4	266.3
48	106.2	253.5	112.4	268.6	156.5	393.7	109.2	260.8
49	104.1	248.4	110.2	263.2	153.1	385.2	107.1	255.5
50	102.2	246.6	108.0	258.0	150.1	377.3	105.1	250.6

Munson and Walker Table for calculating Dextrose, Invert sugar alone, Invert Sugar in presence of sucrose (0.4 g and 2g total sugar), Lactose, Lactose and Sucrose (2 mixtures), and Maltose (crystallised).
(Applicable when Cu_2O is weighted directly)
(Expressed in mg)

Cuprous oxide (Cu_2O)	Dextrose (*d*-glucose)	Invert sugar	Invert and sucrose		Lactose $C_{12}H_{22}O_{11}H_2O$	Lactose and sucrose		Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}+H_2O$	Cuprous oxide (Cu_2O)
			0.4 grain total sugar	2 grams total sugar		1 Lactose, 4 sucrose	1 Lactose, 12 sucrose		
10	4.0	4.5	1.6	...	6.3	6.1	...	6.2	10
20	8.3	8.9	6.1	—	12.5	12.1	—	14.6	20
30	12.6	13.4	10.7	4.3	18.8	18.2	.	22.9	30
40	16.9	17.8	15.2	8.8	25.5	24.7	—	31.3	40
50	21.3	22.3	19.7	13.4	32.3	31.3	...	39.6	50
60	25.6	26.8	24.3	18.0	39.2	37.9	...	48.0	60
70	30.0	31.3	28.9	22.6	46.0	44.6	41.9	56.3	70
80	34.4	35.9	33.5	27.3	52.9	51.3	47.8	64.6	80
90	38.9	40.4	38.2	31.9	59.7	57.9	53.7	73.0	90
100	43.3	45.0	42.8	36.6	66.6	64.6	59.6	81.3	100
110	47.8	49.6	47.5	41.3	73.5	71.3	65.6	89.7	110
120	52.3	54.3	47.2	46.0	80.3	78.0	71.5	98.0	120
130	56.8	58.9	56.9	50.7	87.2	84.7	77.5	106.4	130
140	61.3	63.6	61.6	55.5	94.1	91.4	83.5	114.7	140
150	65.9	68.3	66.4	60.2	101.0	98.1	89.5	123.0	150
160	70.4	73.0	71.2	65.0	107.9	104.8	95.6	131.4	160
170	75.1	77.7	76.0	69.8	114.8	111.6	101.6	139.7	170
180	79.7	82.5	80.8	74.6	121.6	118.3	107.7	148.0	180
190	84.3	87.2	85.6	79.5	128.5	125.1	113.8	156.4	190
200	89.0	92.0	90.5	84.4	135.4	131.9	119.8	164.7	200
210	93.7	96.9	95.4	89.2	142.3	138.6	126.0	173.0	210
220	98.4	101.7	100.3	94.2	149.3	145.4	132.1	181.4	220
230	103.2	106.6	105.2	99.1	156.2	152.2	138.2	189.7	230
240	108.0	111.5	110.1	104.0	163.1	159.0	144.4	198.0	240
250	112.8	116.4	115.1	109.0	170.1	165.8	150.6	206.3	250
260	117.6	121.4	120.1	114.0	177.0	172.6	156.8	214.7	260
270	122.5	126.4	125.1	119.0	184.0	179.4	163.0	223.0	270
280	127.3	131.4	130.2	124.1	190.9	186.3	169.3	231.3	280
290	132.3	136.4	135.3	129.2	197.8	193.1	175.5	239.6	290
300	137.2	141.5	140.4	134.2	204.8	199.9	181.8	247.9	300
310	142.2	146.6	145.5	139.4	211.8	206.8	188.1	256.3	310
320	147.2	151.7	150.7	144.5	218.7	213.6	194.4	264.6	320
330	152.2	156.8	155.8	149.7	225.7	220.5	200.8	272.9	330
340	157.3	162.0	161.0	154.8	232.7	227.4	207.1	281.2	340
350	162.4	167.2	166.3	160.1	239.7	234.3	213.5	289.5	350
360	167.5	172.7	171.5	165.3	246.7	241.2	219.9	297.8	360
370	172.9	177.7	176.8	170.6	253.7	248.1	226.3	306.1	370
380	177.9	183.0	182.1	175.9	260.7	255.0	232.8	314.5	380
390	185.1	188.4	187.5	181.2	267.7	261.9	239.2	322.8	390
400	188.4	193.7	192.9	186.5	274.7	268.9	245.7	331.1	400
410	193.7	199.1	198.3	191.9	281.7	275.8	252.3	339.4	410
420	199.0	204.6	203.7	197.3	288.8	282.8	258.8	347.7	420
430	204.4	210.0	209.2	202.7	295.8	289.8	265.4	356.0	430
440	209.8	215.5	214.7	208.2	302.8	296.8	272.0	364.3	440
450	215.2	221.1	220.2	213.7	309.9	303.8	278.6	372.6	450
460	220.7	226.7	225.8	219.2	316.9	310.8	285.2	380.9	460
470	226.2	232.3	231.4	224.8	323.9	317.7	291.8	389.2	470
480	231.8	237.9	237.1	230.3	331.0	324.7	298.5	397.5	480
490	237.4	243.6	242.7	236.0	338.0	331.7	305.1	405.8	490

HPLC methods used for determining two or three fat-soluble vitamins concurrently or simultaneously in food

Food	*Sample preparation*	*Column*	*Mobile phase*	*Vitamins separated*	*Detection*	*Reference*
Vitamins A and D						
			Reversed-phase chromatography			
Fortified skimmed milk powder	Saponify (hot) in presence of vitamin D_2 or D_3 as internal standard, extract unsaponifiables with petroleum ether/diethyl ether (1:1). Evaporate, dissolve residue in 25 ml MeOH *For retinol*: remove 5 ml aliquot for HPLC (Solution 1) *For vitamin D*: evaporate remaining 20 ml MeOH solution. Purify by C_{18} solid-phase extraction (Solution 2)	Spherisorb ODS 5 µm 250 × 4.6 mm i.d.	Solutions 1 and 2: MeOH/H_2O (97.5:2.5	Solution 1: retinol Solution 2: vitamins D_2 and D_3	Solution 1: UV 325 nm Solution 2: UV 265 nm	Reynolds and Judd (1984)
Fortified fluid milk (whole, semi-skimmed, skimmed)	Saponify (ambient), extract unsaponifiables with hexane. Evaporate, dissolve residue in 6 ml hexane *For retinol*: remove 1 ml aliquot for HPLC (Solution 1) *For vitamin D*: evaporate remaining 5 ml hexane solution. Alumina column chromatography (eluate is Solution 2)	Vydac 201 TP C_{18} 10 µm 250 × 3.2 mm i.d.	Solution 1: MeOH/H_2O (90:10) Solution 2: MeCN/MeOH (90:10)	Solution 1: retinol Solution 2: vitamins D_2 and D_3	Solution 1: UV 325 nm Solution 2: UV 265 nm	Wickroski and McLean (1984)
Vitamins A and E						
			Normal-phase chromatography			
Breakfast cereals fortified with vitamins A and E	Extract sample with a solvent mixture of $CHCl_3$, EtOH and H_2O at 50 °C	µ Porasil 10 µm 300 × 4 mm i.d.	Hexane/$CHCl_3$ containing 1% EtOH (85:15)	Retinyl palmitate, α-tocopheryl acetate	UV 280 nm	Widicus and Kirk (1979)
Butter, whole milk powder, infant formula	Saponify (hot), extract unsaponifiables with diethyl ether	LiChrosorb Si-60 5 µm 250 × 4 mm i.d.	Hexane containing 8% 1,4-dioxan	α-Tocopherol, all-*trans*-retinol	UV and fluorescence detectors connected in series UV (retinol) 325 nm Fluorescence (tocopherol) ex. 293 nm em. 326 nm	Kneifel, Ulberth and Winkler-Macheiner (1987)

Italian cheeses	Saponify (ambient), extract unsaponifiables with diethyl ether	LiChrosorb Si-60 5 µm 250 × 4 mm i.d., column temperature 44 °C	Hexane containing 0.8% 2-PrOH	Total carotenes, α-, β-, γ-, δ-tocopherols, 13-*cis*-, 9, 13-di-*cis*-, 9-*cis*- and all-*trans*-retinol	Programmable UV/Vis. 450 nm (carotenes) 295 nm (tocopherols) 328 nm (retinols)	Stancher and Zonta (1983)
Italian cheeses	Saponify (hot), extract unsaponifiables with hexane/ethyl acetate (9 + 1)	Ultrasphere Si 5 µm 250 × 4.6 mm i.d.	(A) 1% 2-PrOH in hexane and (B) hexane in a multi-linear gradient elution	Total carotenes, α-, β-, γ-, δ-tocopherols, 13-*cis*- and all-*trans*-retinol	Programmable UV/Vis. and fluorescence detectors connected in series Vis. (carotenes) 450 nm Fluorescence (tocopherols): ex. 280 nm em. 325 nm Fluorescence (retinols): ex. 325 nm em. 475 nm	Panfili, Manzi and Pizzoferrato (1994)
Vitamins A, D and E						
			Reversed-phase chromatography			
Milk, milk powder	Saponify (hot), extract unsaponifiables with hexane	Spheri-5 RP-18 5 µm 220 × 4.6 mm i.d.	$MeOH/H_2O$ (99 : 1) containing 0.1 M lithium perchlorate	Retinol, vitamin D_3, α-tocopherol	Amperometric: (oxidative mode), glassy carbon electrode, +1.05 V vs silver–silver chloride reference electrode	Zamarreño *et al.* (1992)

HPLC methods used for determining two or three water-soluble vitamins concurrently or simultaneously in food

Food	Sample preparation	Column	Mobile phase	Compounds separated	Detection	Reference
Thiamin and riboflavin						
		Reversed-phase chromatography				
Raw and cooked potatoes	Reflux sample with 0.1 N HCl for 30 min, then cool to below 50 C. Incubate with buffered (pH 4.5) Takadiastase at 45–50 C for 2 h. Cool, dilute to volume with water and filter *Derivatization*: oxidize thiamin to thiochrome with alkaline $K_3Fe(CN)_6$, filter (0.45 μm)	μBondapak C_{18} 10 μm 300 × 3.9 mm i.d.	Water/MeOH (70 : 30)	Thiochrome Riboflavin (separate chromatograms)	Fluorescence *Thiochrome* ex. 365 nm em. 435 nm *Riboflavin* ex. 450 nm em. 510 nm	Finglas and Faulks (1984)
Dietetic foods	Digest sample with 0.1 N HCl at 95–100 C for 30 min, then cool. Adjust pH to 4.5 and incubate with β-amylase and Takadiastase at 37 C overnight. Dilute to volume with water and filter (0.2 μm) *For riboflavin*: use filtrate directly *For thiamin*: oxidize to thiochrome by treating aliquot of filtrate with alkaline $K_3Fe(CN)_6$. Pass solution through C_{18} Sep-Pak cartridge, wash cartridge with 50 mM sodium acetate then elute thiochrome with $MeOH/H_2O$ (60 : 40)	μBondapak C_{18} 10 μm 300 × 3.9 mm i.d.	50 mM acetate buffer (pH 4.5)/ MeOH (40 : 60)	Thiochrome Riboflavin (separate chromatograms)	Fluorescence *Thiochrome* ex. 366 nm em. 435 nm *Riboflavin* ex. 422 nm em. 522 nm	Hasselmann *et al.* (1989)
Soy products	Hydrate dry samples and heat at 90 C for 30 min. Adjust pH of medium to 2 with 5 N HCl and autoclave at 20 psi for 15 min. Adjust pH of cooled extract to 4.5, centrifuge and filter *For riboflavin*: use filtrate directly *For thiamin*: oxidize to thiochrome by treating aliquot of filtrate with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ and neutralizing with conc. H_3PO_4 after 45 s	Ultrasphere C_{18} 5 μm 150 × 4.6 mm i.d.	10 mM acetate buffer/(pH 5.5)/ MeCN (87 : 13)	Thiochrome Riboflavin (separate chromatograms)	Fluorescence *Thiochrome* filters *Riboflavin* ex. 436 nm em. 535 nm (filters)	Fernando and Murphy (1990)

Continued

Food	*Sample preparation*	*Column*	*Mobile phase*	*Compounds separated*	*Detection*	*Reference*
All food types	Autoclave sample with 0.1 N HCl at 121 °C for 30 min, then cool. Adjust pH to 4.5 and incubate with β-amylase and Takadiastase at 37 °C overnight. Add 50% TCA to precipitate soluble proteins, dilute to volume with water and filter *For riboflavin*: analyse filtrate directly *For thiamin*: oxidize to thiochrome by treating aliquot of filtrate with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ and then neutralizing with conc. H_3PO_4 *Clean-up and concentration*: pass the oxidized extract through a preconditioned C_{18} solid-phase extraction cartridge and wash the cartridge with 50 mM phosphate buffer (pH 7.0). Elute the thiochrome with MeOH/phosphate buffer (80:20)	Novapak C_{18} 4 µm 150 × 3.9 mm i.d. T = 30 °C	50 mM phosphate buffer (pH 7.0)/ MeOH (70:30)	Thiochrome Riboflavin (separate chromatograms)	Fluorescence *Thiochrome* ex. 366 nm em. 435 nm *Riboflavin* ex. 445 nm em. 522 nm	Ollilainen *et al.* (1993)
All food types	Autoclave homogenized sample with 0.1 N HCl at 121 °C for 15 min, then cool. Adjust pH to 4.0–4.5 with 2 N sodium acetate and incubate with Claradiastase at 50 °C for 3 h. Add 50% TCA, heat at 90 °C for 15 min, then cool. Adjust pH to 3.5 with 2 N sodium acetate, dilute with water, then filter through paper *Derivatization*: oxidize to thiochrome by treating aliquot of filtrate with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ and neutralize with conc. H_3PO_4 *Clean-up and concentration*: pass the oxidized extract through a preconditioned C_{18} Sep-Pak cartridge and wash the cartridge sequentially with 5 mM phosphate buffer (pH 7.0) and 5 mM phosphate buffer/MeOH (95:5). Elute the vitamins with 50% aqueous MeOH, dilute to volume and filter (0.45 µm)	Radial-PAK C_{18} 10 µm 100 × 8 mm T = 30 °C	5 mM phosphate buffer (pH 7.0)/ MeOH (65:35)	Thiochrome Riboflavin (separate chromatograms)	Fluorescence *Thiochrome* ex. 360 nm em. 425 nm *Riboflavin* ex. 440 nm em. 520 nm	Hägg (1994)

Cereals	Autoclave sample with 0.1 N HCl at 121 °C for 30 min, then cool. Adjust pH to 4.5 with 2 N sodium acetate, dilute with water and filter through paper *Derivatization*: oxidize thiamin to thiochrome with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ *Clean-up and concentration*: pass the oxidized extract through a preconditioned C_{18} Sep-Pak cartridge and wash the cartridge with 5 mM ammonium acetate (pH 5.0). Elute the vitamins with MeOH/5 mM ammonium acetate (pH 5.0) and filter (0.45 μm)	μBondapak C_{18} 10 μm 300 × 3.9 mm i.d.	5 mM acetate buffer (pH 5.0)/MeOH (72:28)	Thiochrome and riboflavin (in same chromatogram)	Fluorescence (wavelength-programmable) *Thiochrome* ex. 370 nm em. 435 nm *Riboflavin* ex. 370 nm em. 520 nm	Sims and Shoemaker (1993)
Peas, beans, liver, skim milk, whole and enriched wheat flour	Autoclave samples with dilute HCl at 121 °C for 15 min, then cool. Adjust pH to 4.0–4.5 and incubate with Takadiastase at 48 °C for 3 h. Deproteinize by adding 50% TCA and heating at 95–100 °C for 15 min. Cool, adjust pH to 3.5, dilute to volume with water and filter *Derivatization*: oxidize thiamin to thiochrome by treatment with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ followed by conc. H_3PO_4 *Clean-up and concentration*: pass the oxidized extract through a preconditioned C_{18} Sep-Pak cartridge and wash the cartridge sequentially with 10 mM phosphate buffer (pH 7.0) and 10 mM phosphate buffer/MeOH (95:5). Elute the vitamins with 50% aqueous MeOH and dilute to volume	Radial-PAK C_8 (octyl) 10 μm 100 × 8 mm	10 mM phosphate buffer (pH 7.0)/MeOH (63:37)	Thiochrome and riboflavin (in same chromatogram)	Fluorescence *Thiochrome and riboflavin* ex. 360 nm em. 415 nm (filters) *Riboflavin alone* ex. 450 nm em. 530 nm (filters)	Fellman *et al.* (1982)
Cereal products	Autoclave ground samples with 0.1 N HCl at 121 °C for 30 min, then cool. Adjust pH to 4.0–4.5 and incubate with Takadiastase at 50 °C for 3 h (minimum). Cool and dilute to volume with water *Derivatization and clean-up/concentration*: as for Fellman *et al.* (1982) (see above)	Radial-PAK C_{18} 10 μm 100 × 8 mm	5 mM phosphate buffer (pH 7.0)/MeOH (65:35)	Thiochrome and riboflavin (in same chromatogram)	Fluorescence (filters)	Reyes and Subryan (1989)

Continued

Food	*Sample preparation*	*Column*	*Mobile phase*	*Compounds separated*	*Detection*	*Reference*
			Ion interaction chromatography			
Cereal products, fortified breakfast cereals	Autoclave sample with 0.1 N HCl at 121 °C for 30 min, cool and centrifuge	μBondapak C_{18} 10 μm 300 × 3.9 mm i.d.	10 mM phosphate buffer (pH 7.0)/ MeCN (12.5 : 87.5) containing 5 mM sodium heptane sulphonate	Thiamin and riboflavin (in same chromatogram)	UV 254 nm	Kamman, Labuza and Warthesen (1980)
Meat and liver	Autoclave homogenized sample with 0.01 N HCl at 121 °C for 30 min, then cool. Add Takadiastase, Claradiastase and papain, adjust to pH 4.5 and incubate at 37 °C for 16–18 h. Filter through paper, adjust to pH 6.5, refilter and dilute with water	Nucleosil C_{18} 3 μm 150 × 4.6 mm i.d. $T = 45\,°C$	10 mM phosphate buffer (pH 3.0)/ MeCN (84 : 16 for meat and 85 : 15 for liver) containing 5 mM sodium heptane sulphonate	Thiamin and riboflavin (in same chromatogram)	UV 254 nm	Barna and Dworschák (1994)
Cereal products, fresh meat and meat products, fresh fruit and vegetables, eggs, milk, yoghurt	Digest sample with 0.1 N HCl at 95–100 °C for 30 min, cool and dilute to volume. Adjust pH of aliquot to 4.0–4.5 and incubate with Clarase at 45–50 °C for 3 h. Cool and filter *Clean-up and concentration:* pass filtrate through Sep-Pak C_{18} cartridge, wash cartridge with aqueous 5 mM sodium hexane sulphonate and elute the vitamins with methanolic 5 mM sodium hexane sulphonate	Radial-PAK C_{18} 10 μm 100 × 8 mm	MeOH/water (40 : 60) containing 5 mM hexane sulphonic acid	Thiamin and riboflavin (in same chromatogram)	Fluorescence *Thiochrome* ex. 360 nm em. 425 nm (filters) after post-column derivatization with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ *Riboflavin* ex. 360 nm em. 500 nm (filters)	Wimalasiri and Wills (1985) Wills, Wimalasiri and Greenfield (1985)
Enriched cereal-based products	Digest sample with 0.1 N H_2SO_4 at 95–100 °C for 10 min, then cool. Incubate with buffered Mylase at 56 °C for 1 h. Cool, dilute to volume and filter	μBondapak C_{18} 10 μm 300 × 3.9 mm i.d.	MeOH/water (36 : 64) containing 5 mM hexane sulphonic acid and 1% acetic acid	Thiamin and riboflavin (in same chromatogram)	Dual fluorescence *Thiochrome* 1st detector: filters, after post-column derivatization with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ *Riboflavin* 2nd detector: filters	Mauro and Wetzel (1984)

Riboflavin and nicotinic acid						
		Reversed-phase chromatography				
Meat (beef, pork, lamb)	Autoclave homogenized sample with 0.1 N HCl at 121 °C for 30 min, then cool. Adjust pH to 4.0–4.5 and incubate with Takadiastase and papain at 42–45 °C for 2.5–3.0 h. Precipitate proteins by adding TCA, heating to 100 °C for 10 min, then cooling, diluting and filtering Thiamin removed by converting to thiochrome with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ and extracting with isobutanol	Alltech C_{10} 10 μm	20 mM phosphate buffer (pH 7.0)/ MeOH (70:30)	Nicotinic acid and riboflavin (in same chromatogram) Thiamin (as thiochrome) can be determined separately	*Nicotinic acid* UV 254 nm *Riboflavin* Fluorescence ex. 464 nm em. 540 nm *Thiochrome* Fluorescence ex. 378 nm em. 430 nm Detectors connected in series	Dawson, Unklesbay and Hedrick (1988)
Riboflavin and pyridoxine						
		Ion interaction chromatography				
Infant formula (fortified)	Extract sample with water. Deproteinize by pH adjustment to 1.7 and then to 4.6, dilute to volume with water and filter	Spherisorb ODS-1 5 μm 150 × 4.6 mm i.d.	40 mM triethyl ammonium phosphate buffer (pH 3.0) containing 7.5 mM sodium octane sulphonate, 10% MeOH and 5% MeCN	Pyridoxal, pyridoxine, riboflavin	Fluorescence ex. 285 nm em. 546 nm (filter)	Ayi, Yuhas and Deangelis (1986)
Nicotinamide and pyridoxine						
Fortified foods (e.g. milk products, powdered meals)	Digest sample with 2 N H_2SO_4 at 95–100 °C for 30 min. Cool, dilute to volume with water and filter	Partisil ODS 10 μm or Ultrasphere ODS 5 μm	2.5 M sodium acetate (80 ml), acetic acid (50 ml) and water (25 ml) containing 1.1 g sodium heptane sulphonate. Mixture diluted to 1 litre with water	Nicotinamide and pyridoxine	*Nicotinamide* UV 260 nm *Pyridoxine* Fluorescence ex. 296 nm em. 396 nm Detectors connected in series	Rees (1989)

Continued

Food	*Sample preparation*	*Column*	*Mobile phase*	*Compounds separated*	*Detection*	*Reference*
Thiamin, riboflavin and pyridoxine						
Fortified cereal products	Digest ground sample with 0.1 N H_2SO_4 at 95–100 °C for 30 min, then cool. Incubate with buffered Clarase at 35 °C for 1 h, centrifuge and dilute to volume	μBondapak C_{18} 10 μm 250 × 4.6 mm i.d. and 30 × 4.6 mm i.d. short column. Sample clean-up achieved by column switching	MeOH/water/acetic acid (30 : 69 : 1) containing 5 mM sodium hexane sulphonate	Pyridoxine, riboflavin and thiamin	Dual fluorescence *Pyridoxine and riboflavin* 1st detector: ex. 288 nm em. 418 nm (cut-off filter) *Thiochrome* 2nd detector: ex. 360 nm em. 460 nm (cut-off filter) after post-column oxidation of thiamin with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ to form thiochrome	Wehling and Wetzel (1984)
Infant formulas, and medical foods (fortified)	Precipitate proteins by adding perchloric acid, stirring for 0.5 h then adjusting pH to 3.2. Dilute with mobile phase and refrigerate overnight. Filter through paper, refilter through nylon (0.45 μm)	Nova-PAK C_{18} 300 × 3.9 mm i.d.	Water/MeCN containing sodium hexane sulphonate and NH_4OH, adjusted to pH 3.6 with phosphoric acid	Pyridoxine, riboflavin, and thiamin	Fluorescence (wavelength-programmable) A specially designed flow system allows the same detector to be used for two injection sequences. First sequence: *Pyridoxine*: ex. 295 nm; em. 395 nm *Riboflavin*: ex. 440 nm; em. 565 nm 2nd sequence: *Thiochrome*: ex. 360 nm; em. 135 nm after post-column oxidation of thiamin with alkaline $K_3Fe(CN)_6$ to form thiochrome	Chase *et al.* (1993)

MeOH, methanol; EtOH, ethanol; 2-PrOH, isopropanol; MeCN, acetonitrile; THF, tetrahydrofuran; TCA, trichloroacetic acid; EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid; BHT, butylated hydroxytoluene.

							Vitamins					Minerals				
	KCAL	H_2O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	A (RE)	C (mg)	B-2 (mg)	B-6 (mg)	FOL (mcg)	Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B-1 (mg)	NIA (mg)	B-12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	REF
FRUITS																
acerola, raw	31	89.6	0.4	7.5		1.1	75	1644	.06	.01	14	7	12	18	.10	
1 cup	98	0.3	0.1	0.1	0.1	0	752	.02	0.4	.00	.30	143	11	.20	.084	809
apple																
boiled, w/o skin	91	146.2	0.4	23 3		4.1	7	0	.02	.08	1	2	9	5	.07	.202
1 cup	171	0.6	0.1	0.0	0.2	0	75	.03	0.2	.00	.08	150	14	.32	.060	809
cnd, sliced, sweetened	68	84.0	0 2	17 0		1.7	5	0	01	04	0	3	4	2	.03	.156
½ cup	102	0.5	0.1	0 0	0.1	0	52	.01	0.1	00	.03	69	5	.23	.054	809
dried, sulfured	156	20.3	0.6	42 2		5.6	0	2	.10	.08	0	56	9	10	.13	.058
10 rings	64	0.2	0.0	0 0	0 1	0	0	.00	0.6	.00	.16	288	24	.90	.122	809
escalloped, frzn, Stouffers	94	62.9	0.3	20.0				72	00			26	3			
3 oz	85	1 3					83	.02	0 6			60		09		1
micro ckd w/o skin	95	143.9	0.5	24.5		4.8	7	1	.02	.08	1	2	9	5	.07	.241
1 cup	170	0.7	0 1	0.0	0.2	0	68	.03	0.1	.00	.08	158	14	.29	.078	809
raw, w/o skin	73	108.1	0.2	19.0		2 4	5	5	.01	.06	1	0	5	4	.05	.029
1 med	128	0.4	0.1	0.0	0 1	0	56	.02	0.1	.00	.07	145	9	.09	.040	809
raw, w/ skin	81	115.8	0.3	21.0	18.4	3 7	7	8	02	.07	4	0	10	7	.06	.062
1 med	138	0.5	0.1	0.0	0.1	0	73	.02	0.1	.00	.08	159	10	.25	.057	809
applesauce, cnd																
chunky, Mott's	90		0.0	23.0	20.0	2.0		2				0				
½ cup	123	0.0	0 0	0.0	0 0							90				1
cinn, Mott's	110		0.0	28 0	26 0	1.0						0				
4 oz	129	0 0	0 0	0.0	0 0	0						80				1
strawberry fruit pak, Mott's	80		0.0	19.0	15.0			6				5				
3.9 oz	111	0.0	0.0	0.0	0 0							70				1
sweetened	97	101.9	0 2	25.5	21 1	1.5	1	2	01	.03	1	4	5	4	05	.096
½ cup	128	0.2	0 0	0 0	0 1	0	14	.02	0.2	.00	.07	78	9	.45	.055	809
unsweetened	52	107.8	0 2	13.8		1.5	4	1	.03	.03	1	2	4	4	.04	.091
½ cup	122	0.1	0 0	0.0	0 0	0	35	.02	0.2	.00	.12	92	9	.15	.032	809
apricots																
cnd, heavy syrup	75	69.8	0 5	19.3		1.4	111	3	.02	.05	2	4	8	6	.10	.046
4 halves	90	0.1	0.0	0.0	0 0	0	1107	02	0.3	.00	.08	126	11	.27	.070	809
cnd, ice pack	40	72 8	0 5	10 4		1.3	142	4	.02	.05	1	3	10	8	.09	.041
3 halves	84	0 0	0.0	0 0	0 0	0	1420	.02	0.3	.00	08	139	17	.25	.045	809
cnd, light syrup	54	70.2	0.5	14.0		1.4	112	2	.02	.05	1	3	9	7	.09	.044
3 halves	85	0.0	0.0	0.0	0 0	0	1124	.01	0.3	.00	.08	117	11	.33	.067	809
cnd, water pack	24	83 1	0 6	5 8		1.4	116	3	02	.05	2	3	7	6	10	.048
4 halves	90	0.1	0.0	0.1	0 0	0	1164	.02	0 4	.00	08	173	12	.29	.074	809
dried, sulfured	83	10 9	1.3	21.6	13 6	3.1	253	1	.05	.05	4	4	16	16	.26	096
10 halves	35	0.2	0.0	0.1	0.0	0	2534	.00	1 0	.00	.26	482	41	1.65	.150	809
frzn, sweetened	119	88 7	0.8	30.4		2 7	203	11	.05	.07	2	5	12	11	.12	.060
½ cup	121	0.1	0 0	0.1	0 0	0	2033	02	1.0	.00	.24	277	23	1.09	077	809
raw	51	91.5	1.5	11.8	9.0	2.5	277	11	.04	.06	9	1	15	8	.28	.084
3 med	106	0.4	0.0	0.2	0.1	0	2769	.03	0.6	.00	.25	314	20	.57	.094	809
avocado, raw, calif	306	125.5	3 7	12.0		8 5	106	14	.21	.48	113	21	19	71	.73	.422
1 med	173	30 0	4 5	19.4	3.5	0	1059	.19	3 3	.00	1.68	1097	73	2.04	.460	809
avocado, raw, florida	340	242.4	4.8	27.1		16.1	185	24	.37	.85	162	15	33	103	1.28	.517
1 med	304	27.0	5.3	14.8	4.5	0	1860	.33	5.8	.00	2.95	1484	119	1.61	.763	809
banana, raw	105	84.7	1.2	26.7	17 8	2.7	9	10	.11	66	22	1	7	33	.18	173
1 med	114	0.5	0.2	0.0	0 1	0	92	.05	0.6	.00	.30	451	23	.35	.119	809
blackberries																
cnd, heavy syrup	118	96.1	1.7	29 6		4.4	28	4	05	05	34	4	27	22	.23	.892
½ cup	128	0.2	0.0	0.0	0 1	0	280	.03	0.4	.00	.19	127	18	.83	.170	809
frzn, unsweetened	97	124.1	1.8	23.7		7.5	17	5	.07	.09	51	2	44	33	.38	1.847
1 cup	151	0.6	0.0	0 1	0.4	0	172	.04	1.8	.00	.23	211	45	1.21	.181	809

FRUIT & VEGETABLE JUICES

	KCAL	H_2O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	A (RE)	C (mg)	B-2 (mg)	B-6 (mg)	FOL (mcg)	Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B-1 (mg)	NIA (mg)	B-12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	REF
							Vitamins					Minerals				
acerola jce, fresh	51	228.2	1.0	11.6		0.7	123	3872	.15	.01	34	7	24	29	.24	
8 fl oz	242	0.7	0.2	0.2	0.2	0	1232	.05	1.0	.00	.50	235	22	1.21	.208	809
apple cranberry jce, cnd, Mott's	120		0.0	30.0	24 0	0.0						20				
8 fl oz	249	0.0	0.0	0.0	0.0							300				I
apple grape jce, cnd, Mott's	130		0.0	33.0	31.0							15				
8.5 fl oz	240	0.0	0.0	0.0	0.0											I
apple jce, cnd/bottled	117	218.1	0.1	29.0	27.0	0.2	0	2	.04	.07	0	7	17	7	.07	.280
8 fl oz	248	0.3	0.0	0.0	0.1	0	2	.05	0.2	.00	.16	295	17	.92	.055	809
apple jce, from frzn conc	112	210.1	0.3	27.6		0.2	0	1	.04	.08	1	17	14	12	.10	.151
8 fl oz	239	0.2	0.0	0.0	0.1	0	0	.01	0.1	.00	.15	301	17	.62	.033	809
apple raspberry jce, cnd, Mott's	120		0.0	31.0	28.0							15				
8.5 fl oz	262	0.0	0.0	0.0	0 0											I
apricot nectar, cnd	141	213.0	0.9	36.1		1.5	331	2	.04	.06	3	8	18	13	.23	.080
8 fl oz	251	0.2	0.0	0.1	0.0	0	3303	.02	0.7	.00	.24	286	23	.95	.183	809
Beefamato, cnd, Mott's	90		0 0	20.0	12.0	0.0						840				
8 fl oz	249	0.0	0.0	0.0	0 0											I
carrot jce, cnd	74	163.5	1.7	17.1		1.5	4738	16	.10	.40	7	53	44	26	.33	.239
6 fl oz	184	0.3	0.0	0.0	0.1	0	47382	.17	0.7	.00	.42	537	77	.85	.085	811
clam & tomato jce, cnd	76	145.3	1.0	18.1		0.3	37	7	.05	.14	26	664	20	37	1.79	.124
5.5 fl oz	166	0.2	0.0	0.0	0.0	0	357	.07	0.3	50.80	.42	149	129	1.00	.578	814
Clamato, cnd, Mott's	110		1.0	24.0	15 0							900				
8 fl oz	249	0.0	0.0	0.0	0.0											I
grape jce, cnd/bottled	154	212.8	1.4	37.8		0.3	3	0	.09	.16	7	8	23	25	.13	.911
8 fl oz	253	0.2	0.1	0.0	0.1	0	20	.07	0.7	.00	.10	334	28	.61	.071	809
grape jce, from frzn conc, sweetened	128	217.3	0.5	31.9		0.3	3	60	.07	.11	3	5	10	10	.10	.443
8 fl oz	250	0.2	0.1	0.0	0.1	0	20	.04	0.3	.00	.06	53	10	.25	.033	809
grapefruit jce																
Citrus Hill Plus Calcium	70		0.0	19.0				60				10	200			
6 fl oz	185	0.0						.03				140	15			I
cnd	94	222.5	1.3	22.1	18.5	0 2	2	72	.05	.05	26	2	17	25	.22	.049
8 fl oz	247	0.2	0.0	0.0	0.1	0	17	.10	0.6	.00	.32	378	27	.49	.094	809
cnd, sweetened	115	218.4	1.4	27.8		0.3	0	67	.06	.05	26	5	20	25	.15	.050
8 fl oz	250	0.2	0.0	0.0	0.1	0	0	.10	0.8	.00	.33	405	28	.90	.120	809
fresh	96	222.3	1.2	22.7		0.2	2	94	.05	.11	25	2	22	30	.12	.049
8 fl oz	247	0.2	0.0	0.0	0.1	0	25	.10	0.5	.00	.47	400	37	.49	.082	809
from frzn conc	101	220.6	1.4	24.0	25.9	0.2	2	83	.05	.11	9	2	20	27	.12	.049
8 fl oz	247	0.3	0.0	0.0	0.1	0	22	.10	0.5	.00	.47	336	35	.35	.082	809
lemon jce																
cnd/bottled	3	13.9	0.1	1.0		0.1	0	4	.00	.01	2	3	2	1	.01	.003
1 T	18	0.0	0.0	0.0	0.0	0	2	.01	0.0	.00	.01	18	1	.02	.006	809
fresh	4	13.6	0.1	1.3		0.1	0	7	.00	.01	2	0	1	1	.01	.001
1 T	18	0.0	0.0	0.0	0.0	0	3	.00	0.0	.00	.02	19	1	.00	.004	809
fresh	61	221.4	0.9	21.1		1.0	8	112	.02	.12	31	2	17	15	.12	.020
8 fl oz	244	0.0	0.0	0.0	0.0	0	49	.07	0.2	.00	.25	303	15	.07	.071	809
frzn, single-strength	3	13.9	0.1	1.0		0.1	0	5	.00	.01	1	0	1	1	.01	.004
1 T	15	0.0	0.0	0.0	0 0	0	2	.01	0.0	.00	.02	13	1	.02	.004	809
lime jce,																
cnd/bottled	3	13.9	0.0	1.0		0.1	0	1	00	.00	1	2	2	1	.01	.001
1 T	15	0.0	0.0	0.0	0 0	0	2	.00	0.0	.00	.01	11	2	.03	.004	809
fresh	4	13.5	0.1	1.4	0.4	0.1	0	4	00	.01	1	0	1	1	.01	.001
1 T	15	0.0	0.0	0.0	0.0	0	2	.00	0.0	.00	.02	16	1	.00	.004	809
fresh	66	221.9	1.1	22.2	5.9	1.0	2	72	.02	.11	20	2	22	15	.15	.020
8 fl oz	246	0.2	0.0	0.0	0.1	0	25	.05	0.2	.00	.34	268	17	.07	.074	809
orange grapefruit jce, cnd	106	218.9	1.5	25.4		0.2	30	72	.07	.06	35	7	20	25	.17	.042
8 fl oz	247	0.2	0.0	0.0	0.0	0	294	.14	0.8	.00	.35	390	35	1.14	.188	809

	KCAL	H_2O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	Vitamins: A (RE)	C (mg)	B-2 (mg)	B-6 (mg)	FOL (mcg)	Minerals: Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B-1 (mg)	NIA (mg)	B-12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	REF
orange jce																
Citrus Hill Plus Calcium	90		0.0	20 0				72				10	200			
6 fl oz	185	0.0						.12				350	25			1
cnd	105	221.6	1.5	24 5		0.5	45	86	.07	.22	45	5	20	27	.17	.035
8 fl oz	249	0.3	0.0	0.1	0.1	0	436	.15	0.8	.00	.37	436	35	1.10	.142	809
fresh	112	219.0	1.7	25.8	25.3	0.5	50	124	.07	.10	75	2	27	27	.12	.035
8 fl oz	248	0.5	0 1	0.1	0.1	0	496	.22	1.0	.00	.47	496	42	.50	.109	809
from frzn conc	112	219.4	1.7	26.8	26.4	0.5	20	97	.04	.11	109	2	22	25	.12	.035
8 fl oz	249	0.1	0.0	0.0	0.0	0	194	.20	0.5	.00	.39	473	40	.25	.110	809
orange, pineapple, banana jce, Land	100		1.0	24 0								0				
O'Lakes—*6 fl oz*	186	0.0	0 0	0.0	0.0	0						360				1
papaya nectar, cnd	143	212.5	0.4	36.3		1.5	28	8	.01	.02	5	13	25	8	.38	.033
8 fl oz	250	0.4	0.1	0.1	0.1	0	278	.01	0.4	.00	.14	78	0	.85	.033	809
passion fruit jce, purple, fresh	126	211.5	1.0	33 6		0.5	178	74	.32	.12	17	15	10	42	.12	
8 fl oz	247	0.1	0.0	0.0	0.1	0	1771	.00	3.6	.00		687	32	.59	.131	809
passion fruit jce, yellow, fresh	148	208.0	1.7	35.7		0.5	595	45	.25	.15	20	15	10	42	.15	
8 fl oz	247	0.4	0.0	0.1	0.3	0	5953	.00	5.5	.00		687	62	.89	.124	809
peach nectar, cnd	134	213.2	0.7	34.7		1.5	65	13	.03	.02	3	17	12	10	.20	.047
8 fl oz	249	0.0	0.0	0.0	0.0	0	642	.01	0.7	.00	.17	100	15	.47	.172	809
pear nectar, cnd	150	210.0	0.3	39.4		1.5	0	3	.03	.04	3	10	13	8	.18	.075
8 fl oz	250	0.0	0.0	0.0	0.0	0	3	.01	0.3	.00	.05	33	8	.65	.168	809
pineapple jce, cnd	140	213.8	0.8	34.4	31.3	0.5	0	27	.05	.24	58	3	43	33	.28	2.475
8 fl oz	250	0.2	0.0	0.0	0.1	0	13	.14	0.6	.00	.25	335	20	.65	.225	809
pineapple jce, from frzn conc	130	216.3	1.0	31.9		0.5	3	30	.05	.18	27	3	28	23	.28	2.475
8 fl oz	250	0.1	0.0	0.0	0.0	0	25	.18	0.5	.00	.31	340	20	.75	.225	809
prune jce, cnd	182	208.0	1.6	44 7	34.3	2.6	0	10	.18	.56	1	10	31	36	.54	.387
8 fl oz	256	0.1	0.0	0.1	0.0	0	8	.04	2.0	.00	.27	707	64	3.02	.174	809
tangerine jce																
cnd, sweetened	125	216.6	1.2	29.9		0.5	105	55	.05	.08	11	2	45	20	.07	.092
8 fl oz	249	0.5	0.0	0.0	0.1	0	1046	.15	0.2	.00	.31	443	35	.50	.062	809
fresh	106	219.6	1.2	24.9		0.5	104	77	.05	.10	11	2	44	20	.07	.091
8 fl oz	247	0.5	0.1	0.1	0.1	0	1037	.15	0.2	.00	.31	440	35	.49	.062	809
from frzn conc, sweetened	111	212.3	1.0	26.7			137	58	.05	.10	11	2	19	19	.07	.089
8 fl oz	241	0.3	0.0	0.0	0.0	0	1381	.13	0.2	.00	.30	272	19	.24	.060	809
tomato & chili cocktail, cnd, Snap-E-Tom	40		2.0	8.0	4.0	1.0		12				500	0			
6 fl oz	177 ml	0.0	0.0	0.0	0.0	0	2500							1.08		1
tomato jce	31	170.9	1.4	7.7	5.3	0.7	102	33	06	20	36	657	16	20	.25	.140
6 fl oz	182	0.1	0.0	0.0	0.0	0	1012	.09	1.2	.00	.46	400	35	1.06	.184	811
Campbell's	50		2.0	9.0	7.0	1.0		24				860	20			
8 fl oz	243	0.0	0.0	0.0	0.0	0	1000							1.44		1
w/ enchanced tomato flavor, low Na,	50		2.0	10.0	8.0	1.0		60				140	40			
Campbell's—*8 fl oz*	243	0.0	0.0	0.0	0.0	0	750							.36		1
Hunt	22		0.1	5.0	4.4	1.2	12	15				452	13			
8.2 fl oz	165	0.2	0.0			0								.51		1
Veg jce cocktail																
cnd	35	170.2	1.1	8.3	6.0	1.5	213	50	.05	.25	38	491	20	20	.36	.182
6 fl oz	182	0.2	0 0	0 0	0.1	0	2129	.08	1.3	.00	.48	351	31	.76	.364	811
Hunt	36		2.0	7.0	3.0	2.0	50	48				630	2			
5.5 fl oz	177	0.0	0.0			0								.36		1
V-8, Campbell's	50		1.0	10.0	8.0	1.0		60				620	40			
8 fl oz[1]	243	0.0	0.0	0.0	0.0	0	2000							1.08		1
V-8 Lightly Tangy, Campbell's	60		2.0	11.0	9 0	1.0		60				340	40			
8 fl oz	243	0.0	0.0	0 0	0.0	0	3000							1.08		1
V-8 Picante, Campbell's	50		2.0	10.0	7.0	1.0		60				680	40			
8 fl oz	243	0.0	0 0	0.0	0.0	0	2000							1.08		1
V-8 Plus, Campbell's	50		1.0	11.0	8.0	1.0		60				460	40			
8 fl oz	243	0.0	0.0	0.0	0.0	0	5000							1.08		1
V-8, Spicy Hot, Campbell's	50		2.0	10.0	7.0	1.0		36				780	20			
8 fl oz	243	0.0	0.0	0.0	0.0	0	2000							.72		1

1. Low sodium product contains 140 mg sodium per 1 fluid ounce.

SUGARS, SYRUPS, & OTHER SWEETENERS

apple butter	33	9.3	0.0	8.6		0.2	0	0	.00	.01	0	0	1	1	.01	.070
1 T	18	0.1	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.01	16	1	.02	.014	819
fruit spread, grape/strawberry, red cal,	20		0.0	5.0	5.0	0.0	0	0				20	0			
Kraft—*1 T*	17	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0					25		.00		I
honey, strained/extracted	64	3.6	0.1	17.3	17.2	0.0	0	0	.01	.01	0	1	1	0	.05	.017
1 T	21	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.01	11	1	.09	.008	819
jam/jelly/marmalade/preserves, all flavors,	35		0.0	9.0		0.0						5				
Welch's Spreads—*2 t*	10	0.0				0						5				I
jam, Kraft	60		0.0	13.3	8.0	0.0	0	1				10	0			
1 T[1]	20	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0					17		.00		I
jam/preserves	48	6.9	0.1	12.9		0.2	0	2	.00	.00	7	8	4	1	.01	.008
1 T	20	0.0	0.0	0.0	0.0	0	2	.00	0.0	.00	.00	15	2	.10	.020	819
jam, strawberry, Smuckers	38	4.6	0.0	9.4	6.6	0.3		1				1	1			
½ oz	14	0.1				0	50							.05		I
jelly	51	5.1	0.1	13.5		0.2	0	0	.00	.00	0	7	2	1	.01	.026
1 T	19	0.0	0.0	0.0	0.0	0	3	.00	0.0	.00	.04	12	1	.04	.003	819
concord grape, Smuckers	38	4.5	0.0	9.4	6.6	0.3		0				1				
½ oz	14	0.1				0	50					4				I
Kraft	53		0.0	13.4	7.6	0.0	0	0				10	0			
1 T[2]	20	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0					16		.00		I
marmalade, orange	49	6.6	0.1	13.3		0.0	1	1	.00	.00	7	11	8	0	.01	.004
1 T	20	0.0	0.0	0.0	0.0	0	9	.00	0.0	.00	.00	7	1	.03	.018	819
molasses	53	5.2	0.0	13.8	10.9	0.0	0	0	.00	.13	0	7	41	48	.06	.306
1 T	20	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.01	0.2	.00	.16	293	6	.91	.097	819
blackstrap	47	5.7	0.0	12.2		0.0	0	0	.01	.14	0	11	172	43	.20	.522
1 T	20	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.01	0.2	.00	.18	498	8	3.50	.408	819
dark/light, Brer Rabbit	60		0.0	15.0	15.0							10				
1 T	21	0.0	0.0	0.0	0.0											I
preserves, Kraft	50		0.0	13.4	7.3	0.0	0	2				10	0			
1 T[2]	20	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0					15		.00		I
sugar																
brown	827	3.5	0.0	214.1	197.6	0.0	0	0	.02	.06	2	86	187	64	.40	.704
1 cup packed	220	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.02	0.2	.00	24	761	48	4.20	.656	819
white, granulated	15	0.0	0.0	4.0	3.9	0.0	0	0	.00	.00	0	0	0	0	.00	.000
1 t	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	0	0	.00	.002	819
white, granulated	50	0.0	0.0	13.0	12.6	0.0	0	0	.00	.00	0	0	0	0	.00	.001
1 T	13	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	0	0	.01	.006	819
white, granulated	774	0.0	0.0	199.8	193.6	0.0	0	0	.04	.00	0	2	2	0	.06	.014
1 cup	200	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	4	4	12	.086	819
white, powdered	31	0.0	0.0	8.0	7.4	0.0	0	0	.00	.00	0	0	0	0	.00	.001
1 T	8	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	0	0	.00	.003	819
white, powdered	467	0.4	0.0	119.4	111.6	0.0	0	0	.00	.00	0	1	1	0	.04	.008
1 cup	120	0.1	0.0	0.0	0.1	0	0	.00	0.0	.00	.00	2	2	.07	.052	819
sugar substitute																
NatraTaste	4	0.0	0.0	0.9	0.9	0.0										
1 pkt	1.0	0.0				0										I
Sprinkle Sweet, Pillsbury	2	0.2	0.0	0.5				0	.00			1	0			
1 t	0.7	0.0					0	.00	0.0			0	0	.00		I

									Vitamins					Minerals		
	KCAL	H_2O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	A (RE)	C (mg)	B-2 (mg)	B-6 (mg)	FOL (mcg)	Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B-1 (mg)	NIA (mg)	B-12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	REF
Sugar Twin	0		0.0	1.0	1.0	0.0	0	0				0	0			
1 pkt (2 t)	0.8	0.0	0.0	00	0.0	0	0					0		.00		1
Sugar Twin, brown	0		00	00	0.0		0	0				0	0			
1 t	0.4	0.0	0.0	0.0	00	0	0					0		.00		1
Sweet 'n Low	4		0.0	0.9	0.9	0.0						0				
1 pkt	1.0	0.0	0.0	00	0.0	0						0				1
Sweet 10, Pillsbury	0	0.8	00	0.0	00			0	.00			2	0			
½ t	0.8	0.0					0	.00	00			0	0	.00		1
Sweet One	4	0.0	0.0	0.9	0.9	00						0				
1 pkt[4]	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0						11				1
syrup, cane & 15% maple	56	4.8	00	15.0		0.0	0	0	.00	.00	0	21	3	1	.13	114
1 T	20	00	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.01	7	0	.16	004	819
syrup, corn																
dark	56	4 6	00	15 3	7.4	00	0	0	00	.00	0	31	4	2	.01	.020
1 T	20	0.0	00	0.0	00	0	0	.00	0.0	.00	.00	9	2	.07	.011	819
dark, Karo	60	5.4	0.0	15.0								40				
1 T[5]	21	0.0														1
high fructose	53	4.6	0.0	14 4	14 1	0.0	0	0	.00	.00	0	0	0	0	.00	.018
1 T	19	0.0	00	0.0	0.0	0	0	.00	00	.00	.00	0	0	.01	006	819
light	56	4.6	0.0	15.3	12.7	00	0	0	.00	.00	0	24	1	0	.00	.018
1 T	20	0.0	0.0	00	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	1	0	.01	.002	819
light, Karo	60	5.4	0.0	14.9								30				
1 T[6]	21	0.0														1
syrup, corn & sugar	64	3.1	0.0	16.8		0.0	0	0	.01	.00	1	14	5	2	.01	.018
1 T	20	0.0	00	0.0	00	0	0	.00	0.0	.00	.01	13	2	.15	.012	819
syrup, malt	76	5.1	1.5	17.1		0 0	0	0	.09	.12	3	8	15	17	.03	.024
1 T	24	0.0	0.0	0.0	00	0	0	00	1.9	.00	04	77	57	.23	.048	819
syrup, maple	52	6 4	00	13.4	12.0	0.0	0	0	00	.00	0	2	13	3	.83	.660
1 T	20	0.0	0.0	00	0.0	0	0	.00	00	.00	.01	41	0	.24	.015	819
syrup, pancake & waffle	57	4.8	0.0	15.1	10.9	0.0	0	0	.00	.00	0	17	0	0	.01	.018
1 T	20	00	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	0	2	.02	043	819
70% Cal Reduced S&W	60			15.0	00			0				105	0			
¼ cup	60 ml	0.0	0.0	00	0.0	0	0							.00		1
Aunt Jemima	212	26.9	0.0	52.6	37.8	0 2	0	0	.00	.00	0	122	3	1	.17	
¼ cup	80	0.1	00	00	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	8	12	.25	.050	1
butter flavor, Country Kitchen	200		0.0	53.0	40.0	0.0	0	0				200	0			
¼ cu,	59 ml	00	00			0	0					0		.00		1
butter lite, Aunt Jemima	104	43 2	00	26.4	26 0	0.4	0	0	00	.00	0	160	0	0	00	
¼ cup	70	00	0.0	0.0	00	0	0	.00	00	.00	.00	0	10	.03	.000	1
butter rich, Aunt Jamima	209	27.4	0.1	51.9	28.9	0.2	0	0	.00	.00	0	172	0	0	.00	
¼ cup	80	0 2	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	0	24	.21	.070	1
Country Kitchen	200		00	53 0	40 0	0.0	0	0				110	0			
¼ cup	59 ml	00	00	00	0.0	0	0					0		.00		1
Country Kitchen Lite	100		0.0	26 0	25 0	0.0	0	0				160	0			
¼ cup	60 ml	0.0	0.0			0	0					0		.00		1
Country Rich, Aunt Jemima	212	26 5	00	53.1	30 3	0 2	0	0	.00	.00	0	119	0	0	.00	
¼ cup	80	0.0	0.0	00	00	0	0	00	0.0	.00	.00	0	12	.22	.070	1
Country Rich Lite, Aunt Jemima	103	43.1	0.0	26.4	21.6	0.6	0	0	.00	.00	0	229	6	0	.00	
¼ cup	70	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	00	.00	.00	1	12	.03	.000	1
Golden Griddle	55	5 7	0.0	14 2								15				
1 T[7]	20	0.0														1
Karo	60	5.5	0.0	14.9								35				
1 T[8]	21	0.0														1
lite, Aunt Jemima	93	38 0	0.0	23 7	22 9	0 5	0	0	.00	.00	0	139	0	0	.00	
1 pkt	62	0.0	0.0	00	00	0	0	.00	0.0	.00	.00	0	9	.02	.000	1
lite, Mrs. Richardson's	103	43.6	0.0	25.9	25.2	0.2	0	0	.00	.00	0	161	0	0	.00	
¼ cup	70	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	0	10	.02	.000	1
Log Cabin	200		0.0	52 0	31.0	0.0	0	0				60	0			
¼ cup	59 ml	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0					0		.00		1
Log Cabin Lite	100		0.0	26.0	25 0	0.0	0	0				180	0			
¼ cup	60 ml	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0					0		.00		1

									Vitamins					Minerals		
	KCAL	H_2O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	A (RE)	C (mg)	B-2 (mg)	B-6 (mg)	FOL (mcg)	Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B-1 (mg)	NIA (mg)	B-12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	REF
CHIPS, PRETZELS, POPCORN, & OTHER SNACK FOODS																
banana chips	147	1.2	0.7	16.6		2.2	2	2	.00	.07	4	2	5	22	.21	.442
1 oz	28	9.5	8.2	0.6	0.2	0	24	.02	0.2	.00	.18	152	16	.35	.058	819
beef & chicken stick, smoked	110	3.8	4.3	1.1			34	1	.09	.04	0	296	14	4	.48	.017
.7 oz stick	20	9.9	4.2	4.1	0.9	27	302	.03	0.9	.20	.07	51	36	.68	.026	819
beef jerky, chopped & formed	82	4.7	6.6	2.2		0.4	0	0	.03	.04	27	443	4	10	1.62	.022
1 large piece	20	5.1	2.2	2.3	0.2	10	0	.03	0.3	.20	.03	119	81	1.08	.045	819
beef jerky, Lance	27	1.3	3.0	1.1					.06			183	3			
.3 oz	7	1.2						.01	0.7			45		.44		1
beef, sliced, Armour Star	60		8.0	2.0	2.0	0.0	0	0				1370	0			
7 slices	30	1.5	0.5			25	0							.72		1
beef snack, Lance	91	2.6	4.1	0.3					.05			340	7			
.6 oz	16	8.0						.16	1.0			58		.77		1
Bugles																
baked, Betty Crocker	130		2.0	23.0	2.0	0.0	0	0				350	0			
1 ⅓ cups	30	3.5	0.5			0	0					20		.00		1
Betty Crocker	150		1.0	20.0	1.0	0	0					340	0			
1 ⅓ cups	30	7.0	6.0			0	0					20		.00		1
cheddar cheese, baked, Betty Crocker	130		2.0	23.0	2.0	0.0	0	0				430	0			
1 ⅓ cups	30	3.5	0.5			0	0					40		.00		1
nacho, Betty Crocker	160		2.0	18.0	2.0	0	0					300	0			
1 ⅓ cups	30	9.0	7.0			0	0					40		.00		1
ranch, Betty Crocker	160		2.0	18.0	2.0	0	0					310	0			
1 ⅓ cups	30	9.0	8.0			0	0					50		.00		1
sour cream & onion, Betty Crocker	160		2.0	18.0	2.0	0.0	0	0				260	0			
1 ⅓ cups	30	9.0	8.0			0	0					35		.00		1
cheese balls, Lance	188	0.7	1.7	16.2					.11			417	42			
1.1 oz	32	13.1	3.3	7.9	1.8	5		.13	0.3			32		.51		1
cheese puffs/twists	157	0.4	2.2	15.3		0.3	10	0	.10	.04	34	298	16	5	.11	.020
1 oz	28	9.8	1.9	5.7	1.3	1	75	.07	0.9	.04	.11	47	31	.67	.018	819
cheese straws	272	13.0	6.7	20.7				0	.10			433	155			
10 pieces	60	17.9	6.4				230	.01	0.2			38	124	.40		456
cheese twist, crunchy, Lance	225	1.0	2.9	24.9					.04			512	35			
1.5 oz	43	16.0	4.8	10.2	1.0	2		.01	0.5			66		.36		1
Cheez Balls, Planters	150		2.0	15.0	1.0	1.0						300				
1 oz	28	10.0	2.0	3.5	0.5											1
Cheez Balls, red fat, Planters	140		3.0	18.0	1.0							380				
1 oz	28	6.0	1.5	2.0	0.5											1
Cheez Curls, Planters	150		2.0	15.0	1.0							310				
1 oz	28	10.0	2.0	3.5	0.0											1
Cheez Curls, red fat, Planters	130		3.0	19.0	1.0							350				
1 oz	28	8.0	1.5	2.0	0.5											1
Chex Mix	119	1.0	3.1	18.2		1.6	4	13	.14	.44	0	288	10	18	.89	.435
⅔ cup (1 oz)	28	4.8	1.5			0	41	.44	4.7	3.47	.13	78	82	8.92	.128	819
Combos Pretzel Cheddar Snacks	131	0.5	2.8	18.9			2	0	.16	.01	2	317	86	6	.21	.127
1 oz	28	4.8				1	19	.09	0.9	.03	.14	37	41	.28	.024	819
corn-based cones	145	0.6	1.6	17.8		0.3	9	0	.07	.01	1	290	1	3	.06	.025
1 oz	28	7.6	6.4	0.5	0.2	0	90	.09	0.4	.00	.06	23	12	.72	.011	819
corn-based cones, nacho	152	0.5	1.8	16.2		0.3	11	0	.03	.03	1	270	10	7	.14	.022
1 oz	28	9.0	7.6	0.6	0.2	1	89	.06	0.4	.00	.11	35	22	.36	.017	819
corn-based snack, onion-flavor	142	0.6	2.2	18.5		1.1	3	1	.09	.04	5	278	8	8	.09	.057
1 oz	28	6.4	1.2	3.8	0.9	0	34	.06	0.9	.00	.07	41	20	1.05	.033	819
corn cakes	70	0.8	1.5	15.0		0.3	4	0	.01	.03	3	88	3	21	.36	.327
2 cakes	18	0.4	0.1	0.1	0.2	0	44	.04	0.9	.00	.15	28	28	.25	.076	819
blueberry crunch, Quaker	49	0.4	0.7	11.5	3.9	0.3		0	.00	.03	3	3	1	9	.13	
1 cake	13	0.2	0.0	0.1	0.1	0	19	.02	0.4	.00	.08	16	20	.08	.020	1
butter flavor, Quaker	34	0.5	0.7	7.5	0.0	0.3		0	.00	.03	3	45	1	9	.13	
1 cake	9	0.2	0.1	0.1	0.1	0	19	.02	0.4	.00	.08	17	20	.08	.020	1

									Vitamins					Minerals		
	KCAL	H_2O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	A (RE)	C (mg)	B-2 (mg)	B-6 (mg)	FOL (mcg)	Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B-1 (mg)	NIA (mg)	B-12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	REF
caramel, Quaker	50	0.4	0.7	11.5	3.8	0.3		0	.00	.03	3	28	1	9	.13	
1 cake	13	0.2	0.0	0.1	0.1	0	19	.02	0.3	.00	.08	15	20	.08	.020	1
monterey jack, Quaker	38	0.3	0.9	8.2	0.4	0.3		0	.02	.04	3	82	9	10	.16	
1 cake	10	0.3	0.1	0.1	0.1	1	23	.02	0.3	.02	.10	27	27	.09	.020	1
strawberry crunch, Quaker	49	0.4	0.7	11.5	3.9	0.3		0	.00	.03	3	3	1	9	.13	
1 cake	13	0.2	0.0	0.1	0.1	0	170	.02	0.4	.00	.08	16	20	.08	.020	1
white cheddar, Quaker	38	0.3	0.9	8.1	0.4	0.3		0	.01	.04	3	89	8	10	.16	
1 cake	10	0.3	0.1	0.1	0.1	0	22	.02	0.3	.02	.10	25	27	.09	.020	1
corn chips	153	0.3	1.9	16.1		1.4	3	0	.04	.07	6	179	36	22	.36	.108
1 oz	28	9.5	1.3	2.7	4.7	0	27	.01	0.3	.00	.11	40	82	.37	.046	819
barbecue	148	0.3	2.0	15.9		1.5	17	0	.06	.07	11	216	37	22	.30	.219
1 oz	28	9.3	1.3	2.7	4.6	0	173	.02	0.5	.00	.04	67	59	.44	.047	819
barbecue, Lance	257	0.8	3.0	25.3					.07			364	41			
1.7 oz	50	16.0	3.7	9.7	2.7	0		.02	0.8			43		.37		1
Lance	262	0.4	3.2	25.9								355	32			
1.7 oz	50	17.2	4.4	10.8	2.3	0		.03	0.7			50		.59		1
Planters	160		2.0	16.0	1.0	2.0						170				
1 oz[1]	28	10.0	1.5	2.5	6.0	0										1
Corn Crisps																
fresh roasted corn, Pringles	140	0.3	2.0	17.0				1	.02			210	2	24	.30	
1 oz	28	7.0	1.0	2.0	4.0	0	260	.01	0.7			71	60	.60	.030	1
smooth ranch, Pringles	140		2.0	17.0								230				
1 oz	28	7.0	1.0	2.0	4.0											1
tangy cheese, Pringles	140	0.3	2.0	17.0				2	.03			210	10	24	.30	
1 oz	28	7.0	1.0	2.0	4.0	1	320	.01	0.6			80	71	.30	.020	1
Doo Dads Snack Mix, Nabisco	260	1.7	5.9	36.7		3.9	25	0	.18	.12	23	724	42	34	1.28	1.006
1 cup (2 oz)	57	10.5	2.0			1	86	.21	3.1	.01	.33	158	169	1.42	.183	819
meat sticks, Armour Big Ones	130		5.5	1.0	1.0	0.0	0	0				580	0			
1 oz stick[2]	28	12.0	4.5			35	0							.36		1
oriental mix, rice-based	156	0.7	4.9	14.6		3.7	0	0	.04	.02	11	117	15	33	.75	.361
1 oz	28	7.3	1.1	2.8	3.0	0	1	.09	0.9	.00	.13	93	74	.69	.038	819
popcorn, butter																
94% fat-free, Pop Secret	20		1.0	4.0	0.0	1.0	0	0				40	0			
1 cup	5	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0					10		.00		1
frzn, Pillsbury	212		2.9	20.0		1.1		3	.03			485	10			
3 cups	40	13.6					53	.05	0.7			95	72	.64		1
frzn, Pillsbury Microwave	210		3.0	20.4		1.0		3	.03			415	8			
3 cups	40	13.2					54	.05	0.7			96	73	.68		1
light, movie theater, Redenbacher	113		2.6	18.9	0.0	4.5	0	0				321	2			
Microwave—2 *T unpopped*	31	5.1	1.0			0	0							.63		1
light, snack size, Redenbacher Microwave	183		4.1	30.0	0.0	7.2	0	0				539	2			
1.76 oz	50	8.4	1.7		0.1	0	0							1.00		1
movie theater, Smartpop Microwave	92		2.8	20.3	0.0	4.9	0	0				307	16			
2 T unpopped	30	2.1	0.4			0	0						–	.12		1
no salt added, Redenbacher Microwave	176		2.5	18.7	0.0	4.5	0	0				2	2			
2 T unpopped	37	12.1	2.6			0	0							.62		1
Pop Secret	35		4.0	0.0	0	0				50	0					
1 cup	7	2.5				0	0					15		.00		1
Redenbacher Microwave	168		2.1	15.4	0.0	3.7		0				388	1			
2 T unpopped	34	12.5	2.7			0								.51		1
snack size, Redenbacher Microwave	287		3.4	24.8	0.0	5.9	0	0				647	2			
2 oz	57	22.0	4.8			0	0							.83		1
popcorn, butter toffee, Fiddle Faddle	150		2.0	21.0	13.0	1.0						160				
½ cup	32	7.0	3.5			10										1
popcorn, butter/zesty, Redenbacher	177		2.2	16.3	0.0	3.9	0	0				429	1			
Microwave—2 *T unpopped*	36	13.2	2.9			0	0							.55		1
popcorn cakes	77	1.0	1.9	16.0		0.6	1	0	.04	.04	4	58	2	32	.80	.197
2 cakes	20	0.6	0.1	0.2	0.3	0	14	.01	1.2	.00	.09	65	55	.37	.114	819
butter, mini, Quaker	48	0.5	1.6	10.9	0.2	1.6		0	.04	.03	3	142	1	19	.49	
6 mini cakes	14	0.5	0.1	0.1	0.2	0	28	.03	0.3	.00	.05	40	43	.38	.060	1

							Vitamins					Minerals				
	KCAL	H_2O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	A (RE)	C (mg)	B-2 (mg)	B-6 (mg)	FOL (mcg)	Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B-1 (mg)	NIA (mg)	B-12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	REF

POULTRY
CHICKEN, BROILER/FRYER

dark meat w/o skin																
fried	219	55.7	29.0	2.6		0.0	24	0	.25	.37	9	97	18	25	2.91	.033
3.5 oz	100	11.6	3.1	4.3	2.8	96	79	.09	7.1	.33	1.26	253	187	1.49	.089	805
roasted	205	63.1	27.4	0.0	0.0	0.0	22	0	.23	.36	8	93	15	23	2.80	.021
3.5 oz	100	9.7	2.7	3.6	2.3	93	72	.07	6.5	.32	1.21	240	179	1.33	.080	805
stewed	192	65.8	26.0	0.0	0.0	0.0	21	0	.20	.21	7	74	14	20	2.66	.020
3.5 oz	100	9.0	2.5	3.3	2.1	88	69	.06	4.7	.22	.89	181	143	1.36	.075	805
dark meat w/ skin, roasted	253	58.6	26.0	0.0	0.0	0.0	58	0	.21	.31	7	87	15	22	2.49	.021
3.5 oz	100	15.8	4.4	6.2	3.5	91	201	.07	6.4	.29	1.11	220	168	1.36	.077	805
dark meat w/ skin, stewed	233	63.0	23.5	0.0	0.0	0.0	54	0	.18	.17	6	70	14	18	2.26	.019
3.5 oz	100	14.7	4.1	5.8	3.2	82	186	.05	4.5	.20	.77	166	133	1.31	.068	805
light & dark meat w/o skin																
flour coated & fried	219	57.5	30.6	1.7		0.1	18	0	.20	.48	7	91	17	27	2.24	.028
3.5 oz	100	9.1	2.5	3.4	2.1	94	59	.09	9.7	.34	1.17	257	205	1.35	.075	805
roasted	190	63.8	28.9	0.0	0.0	0.0	16	0	.18	.47	6	86	15	25	2.10	.019
3.5 oz	100	7.4	2.0	2.7	1.7	89	53	.07	9.2	.33	1.10	243	195	1.21	.067	805
stewed	177	66.8	27.3	0.0	0.0	0.0	15	0	.16	.26	6	70	14	21	1.09	.019
3.5 oz	100	6.7	1.8	2.4	1.5	83	50	.05	6.1	.22	.75	180	150	1.17	.061	805
light & dark meat w/ skin																
fried, batter dipped	289	49.4	22.5	9.4		0.3	28	0	.19	.31	8	292	21	21	1.67	.037
3.5 oz	100	17.4	4.6	7.1	4.1	87	93	.12	7.0	.28	.89	185	155	1.37	.072	805
fried, flour coated	269	52.4	28.6	3.1		0.1	27	0	.19	.41	6	84	17	25	2.04	.034
3.5 oz	100	14.9	4.1	5.9	3.4	90	89	.09	9.0	.31	1.08	234	191	1.38	.075	805
roasted	239	59.5	27.3	0.0	0.0	0.0	47	0	.17	.40	5	82	15	23	1.94	.020
3.5 oz	100	13.6	3.8	5.3	3.0	88	161	.06	8.5	.30	1.03	223	182	1.26	.066	805
stewed	219	63.9	24.7	0.0	0.0	0.0	42	0	.15	.24	5	67	13	19	1.76	.019
3.5 oz	100	12.6	3.5	4.9	2.7	78	146	.05	5.6	.20	.67	166	139	1.16	.057	805
light meat w/o skin																
fried	192	60.1	32.8	0.4		0.0	9	0	.13	.63	4	81	16	29	1.27	.020
3.5 oz	100	5.5	1.5	2.0	1.3	90	30	.07	13.4	.36	1.03	263	231	1.14	.054	805
roasted	173	64.8	30.9	0.0	0.0	0.0	9	0	.12	.60	4	77	15	27	1.23	.017
3.5 oz	100	4.5	1.3	1.5	1.0	85	29	.07	12.4	.34	.97	247	216	1.06	.050	805
stewed	159	68.0	28.9	0.0	0.0	0.0	8	0	.12	.33	3	65	13	22	1.19	.018
3.5 oz	100	4.0	1.1	1.4	0.9	77	27	.04	7.8	.23	.57	180	159	.93	.044	805
light meat w/ skin																
flour coated & fried	246	54.7	30.4	1.8		0.1	20	0	.13	.54	4	77	16	27	1.26	.026
3.5 oz	100	12.1	3.3	4.8	2.7	87	68	.08	12.0	.33	.97	239	213	1.21	.058	805
roasted	222	60.5	29.0	0.0	0.0	0.0	32	0	.12	.52	3	75	15	25	1.23	.018
3.5 oz	100	10.8	3.0	4.3	2.3	84	110	.06	11.1	.32	.93	227	200	1.14	.053	805
stewed	201	65.1	26.1	0.0	0.0	0.0	28	0	.11	.27	3	63	13	20	1.14	.018
3.5 oz	100	10.0	2.8	3.9	2.1	74	96	.04	6.9	.20	.54	167	146	.98	.044	805

CHICKEN, BROILER/FRYER PARTS

back w/ skin, fried	238	31.7	20.0	4.7			27	0	.17	.22	6	65	17	17	1.78	.036
½ back	72	14.9	4.0	5.9	3.5	64	89	.08	5.3	.20	.79	163	120	1.17	.066	805
breast w/o skin																
flour coated & fried	161	51.8	28.8	0.4		0.0	6	0	.11	.55	3	68	14	27	.93	.018
½ breast	86	4.1	1.1	1.5	0.9	78	20	.07	12.7	.32	.89	237	212	.98	.046	805

	KCAL / WT (g)	H_2O (g) / FAT (g)	PRO (g) / STA (g)	CHO (g) / MUFA (g)	SUGR (g) / PUFA (g)	DFIB (g) / CHOL (mg)	Vitamins: A (RE) / A (IU)	C (mg) / B-1 (mg)	B-2 (mg) / NIA (mg)	B 6 (mg) / B-12 (mcg)	FOL (mcg) / PANT (mg)	Minerals: Na (mg) / K (mg)	Ca (mg) / P (mg)	Mg (mg) / Fe (mg)	Zn (mg) / Cu (mg)	Mn (mg) / RFF
roasted	142	56.1	26.7	0.0	0 0	0.0	5	0	.10	.52	3	64	13	25	.86	.015
½ breast	86	3.1	0.9	1.1	0.7	73	18	.06	11.8	.29	.83	220	196	.89	.042	805
stewed	143	64.9	27.5	0 0	0.0	0 0	6	0	.11	.31	3	60	12	23	.92	.017
½ breast	95	2.9	0 8	1.0	0 6	73	18	.04	8 0	.22	.54	178	157	.84	.041	805
breast w/ skin																
flour coated & fried	218	55.5	31.2	1 6		0 1	15	0	.13	.57	4	74	16	29	1 08	.025
½ breast	98	8.7	2.4	3 4	1.9	87	49	.08	13.5	.33	.98	254	228	1.17	.056	805
roasted	193	61.2	29.2	0 0	0.0	0.0	26	0	.12	.55	4	70	14	26	1.00	018
½ breast	98	7.6	2.1	3.0	1.6	82	91	.06	12 5	.31	.92	240	210	1.05	.049	805
stewed	202	72.8	30.1	0 0	0 0	0 0	26	0	.13	.32	3	68	14	24	1.07	.020
½ breast	110	8.2	2.3	3 2	1 7	83	90	.05	8 6	.23	.60	196	172	1.01	.048	805
drumstick w/o skin, roasted	76	29.4	12.4	0 0	0.0	0.0	8	0	10	.17	4	42	5	11	1.40	.009
1 drumstick	44	2.5	0 7	0.8	0.6	41	26	.03	2 7	.15	57	108	81	.57	.035	805
drumstick w/ skin																
flour coated & fried	120	27.8	13.2	0.8		0 0	12	0	.11	.17	4	44	6	11	1.42	014
1 drumstick	49	6.7	1.8	2.7	1.6	44	41	.04	3.0	.16	.60	112	86	.66	.039	805
roasted	112	32 6	14 1	0 0	0 0	0 0	16	0	.11	.18	4	47	6	12	1.49	.011
1 drumstick	52	5.8	1.6	2.2	1.3	47	52	.04	3.1	.17	.63	119	91	.69	.040	805
stewed	116	37.1	14.4	0 0	0.0	0.0	15	0	.11	.11	4	43	6	11	1.51	.011
1 drumstick	57	6.1	1.7	2.3	1.4	47	52	.03	2.4	.13	.49	105	80	.76	.040	805
leg w/o skin, stewed	187	67.1	26 5	0.0	0.0	0 0	18	0	.22	.21	8	79	11	21	2.81	.019
1 leg	101	8.1	2.2	3.0	1.9	90	61	.06	4.8	.23	.92	192	150	1.41	.078	805
leg w/ skin																
flour coated & fried	284	61.0	30.1	2.8		0 1	31	0	.26	.38	9	99	18	27	3.00	.036
1 leg	112	16.2	4.4	6.4	3.7	105	103	.10	7.3	.35	1.34	261	204	1.60	.098	805
roasted	264	69.4	29.6	0.0	0 0	0.0	44	0	.24	.38	8	99	14	26	2.96	.024
1 leg	114	15.3	4.2	6.0	3.4	105	154	.08	7.1	.34	1.32	257	198	1.52	.088	805
stewed	275	80.0	30.2	0.0	0 0	0.0	45	0	.24	.22	8	91	14	25	3 04	.024
1 leg	125	16.1	4.5	6.3	3.6	105	155	.07	5.7	.25	1.02	220	174	1.69	.089	805
neck w/o skin, simmered	32	12.1	4.4	0.0	0.0	0.0	6	0	05	03	1	12	8	3	.68	009
1 neck	18	1.5	0.4	0.5	0.4	14	22	.01	0.7	03	.12	25	23	.47	.023	805
neck w/ skin, flour coated & fried	120	17.1	8.6	1.5			21	0	09	.09	2	30	11	7	1.11	.019
1 neck	36	8.5	2.3	3.5	2.0	34	68	.03	1 9	.09	.35	65	48	.87	.017	805
neck w/ skin, simmered	94	23.5	7.5	0.0	0.0	0.0	18	0	.09 '	'.04	1	20	10	5	1.03	'.017
1 neck	38	6.9	1.9	2.7	1.5	27	61	[illegible]	1.3	.05	.20	41	46	.87	.037	805
thigh w/o skin, roasted	109	32 7	13.5	0 0	0 0	0 0	10	0	.12	.18	4	46	6	12	1 34	.011
1 thigh	52	5.7	1 6	2 2	1 3	49	34	.04	3 4	16	62	124	95	68	042	805
thigh w/ skin																
flour coated & fried	162	33 6	16 6	2 0		0 1	18	0	.15	20	5	55	9	16	1.56	.022
1 thigh	62	9.3	2.5	3.6	2 1	60	61	.06	4 3	.19	73	147	116	.92	.055	805
roasted	153	36.8	15 5	0.0	0.0	0 0	30	0	.13	.19	4	52	7	14	1 46	013
1 thigh	62	9 6	2.7	3.8	2.1	58	102	.04	3.9	.18	.69	138	108	.83	.048	805
stewed	158	42.9	15.8	0 0	0 0	0 0	30	0	.13	.12	4	48	7	13	1.53	.013
1 thigh	68	10 0	2.8	4 0	2.2	57	103	.04	3.3	.13	53	116	95	.93	.018	805
wing w/ skin																
flour coated & fried	103	15 6	8.4	0.8		0 0	12	0	.04	.13	1	25	5	6	.56	(X)9
1 wing	32	7.1	1.9	2 8	1 6	26	40	.02	2.1	.09	.28	57	48	.40	020	805
roasted	99	18.7	9.1	0.0	0.0	0.0	16	0	.04	.14	1	28	5	6	.62	.006
1 wing	34	6.6	1.9	2.6	1.4	29	54	01	2.3	.10	.30	63	51	.43	.019	805
stewed	100	24.9	9.1	0 0	0 0	0.0	16	0	.04	09	1	27	5	6	.65	(X)7
1 wing	40	6.7	1.9	2 6	1.4	28	53	.02	1 8	.07	.20	56	48	.45	.018	805

FISH, SHELLFISH, & CRUSTACEA

abalone, fried	161	81.1	16.7	9.4		0.0	2	2	.11	.13	5	503	31	48	.81	.060
3 oz[1]	85	8.8	1.4	2.3	1.4	80	4	.19	1.6	.59	2.44	242	185	3.23	.194	815
abalone, raw	89	63.4	14.5	5.1		0.0	2	2	.09	.13	4	256	26	41	.70	.034
3 oz	85	0.6	0.1	0.1	0.1	72	4	.16	1.3	.62	2.55	213	162	2.71	.167	815
alewife, cnd	127	79.4	19.4	0.0		0.0							218			
3.5 oz	100	4.9														B&C
alewife, raw	141	73.0	16.2	0.0		0.0										
3.5 oz	100	8.0														B&C
anchovy, cnd in olive oil	42	10.1	5.8	0.0	0.0	0.0	4	0	.07	.04	3	734	46	14	.49	.020
5 anchovies	20	1.9	0.4	0.8	0.5	17	14	.02	4.0	.18	.18	109	50	.93	.068	815
anchovy paste	14		1.4	0.3		0.0										
1 t	7	0.8			0.5											B&C
anchovy, raw	111	62.4	17.3	0.0	0.0	0.0	13	0	.22	.12	7	88	125	35	1.46	.060
3 oz	85	4.1	1.1	1.0	1.4	51	43	.05	11.9	.53	.55	326	148	2.76	.179	815
barracuda, pacific, raw	113	75.4	21.0	0.0		0.0										
3.5 oz	100	2.6														B&C
bass, black																
baked, fat added	287		23.6	3.0		0.0		0	.16	3.50		68	96			
4 oz	113	19.4					97	.07				256	269	1.20		B&C
raw	93	79.3	19.2	0.0		0.0						68				
3.5 oz	100	1.2										256				B&C
stuffed, baked	259	52.9	16.2	11.4		0.0										
3.5 oz[2]	100	15.8														B&C
bass, freshwater, ckd by dry heat	124	58.5	20.6	0.0	0.0	0.0	30	2	.08	.12	14	77	88	32	.71	.969
3 oz	85	4.0	0.9	1.6	1.2	74	98	.07	1.3	1.96	.74	388	218	1.62	.101	815
bass, freshwater, raw	97	64.3	16.0	0.0	0.0	0.0	26	2	.06	.10	13	60	.68	26	.55	.756
3 oz	85	3.1	0.7	1.2	0.9	58	85	.06	1.1	1.70	.64	303	170	1.27	.079	815
bass, striped, ckd by dry heat	105	62.4	19.3	0.0	0.0	0.0	26	0	.03	.29	9	75	16	43	.43	.016
3 oz	85	2.5	0.6	0.7	0.9	88	88	.10	2.2	3.75	.74	279	216	.92	.034	815
bass, striped, raw	82	67.4	15.1	0.0	0.0	0.0	23	0	.03	.26	8	59	13	34	.34	.013
3 oz	85	2.0	0.4	0.6	0.7	68	77	.09	1.8	3.25	.64	218	168	.71	.026	815
bluefish, ckd by dry heat	135	53.3	21.8	0.0	0.0	0.0	117	0	.08	.39	2	65	8	36	.88	.023
3 oz	85	4.6	1.0	2.0	1.2	65	390	.06	6.2	5.29	.81	406	247	.83	.058	815
bluefish, raw	105	60.3	17.0	0.0	0.0	0.0	101	0	.07	.34	1	51	6	28	.69	.018
3 oz	85	3.6	0.8	1.5	0.9	50	338	.05	5.1	4.58	.70	316	193	.41	.045	815
bonito, cnd	257		19.8	0.0		0.0			.09			514	8	28		
3.5 oz	100	19.1						.01	9.8			302	193	1.00		B&C
bullhead, black, raw	84	81.3	16.3	0.0		0.0										
3.5 oz	100	1.6														B&C
burbot, ckd by dry heat	98	62.4	21.1	0.0	0.0	0.0	4	0	.15	.29	1	105	54	35	.82	.763
3 oz	85	0.9	0.2	0.1	0.3	65	14	.36	1.7	.78	.15	441	218	.98	.218	815

Food	KCAL / WT (g)	H_2O (g) / FAT (g)	PRO (g) / SFA (g)	CHO (g) / MUFA (g)	SUGR (g) / PUFA (g)	DFIB (g) / CHOL (mg)	Vitamins: A (RE) / A (IU)	C (mg) / B-1 (mg)	B-2 (mg) / NIA (mg)	B-6 (mg) / B-12 (mcg)	FOL (mcg) / PANT (mg)	Minerals: Na (mg) / K (mg)	Ca (mg) / P (mg)	Mg (mg) / Fe (mg)	Zn (mg) / Cu (mg)	Mn (mg) / REF
burbot, raw	77	67.4	16.4	0.0	0 0	0.0	3	0	.12	.26	1	82	43	27	.65	.595
3 oz	85	0.7	0.1	0.1	0.3	51	13	.32	1.4	.68	.13	344	170	.77	.170	815
butterfish, ckd by dry heat	159	56.8	18.8	0 0	0.0	0.0	28	0	.16	.29	14	97	24	27	.84	.016
3 oz	85	8.7				71	93	.12	4.9	1.56	.74	409	262	.54	.059	815
butterfish, raw	124	63.0	14.7	0.0	0.0	0.0	26	0	.13	.26	13	76	19	21	.65	.013
3 oz	85	6.8	2.9	2.9	0.5	55	85	.10	3.8	1.62	.64	319	204	.43	.046	815
carp, ckd by dry heat	138	59 2	19.4	0 0	0.0	0.0	8	1	.06	.19	15	54	44	32	1.62	.043
3 oz	85	6.1	1.2	2.5	1.6	71	27	.12	1.8	1.25	.74	363	452	1.35	.062	815
carp, raw	108	64.9	15 2	0.0	0.0	0.0	8	1	.05	.16	13	42	35	25	1.26	.036
3 oz	85	4.8	0.9	2.0	1.2	56	25	.10	1.4	1.30	.64	283	353	1.05	.048	815
catfish, channel																
breaded & fried	195	50.0	15.4	6.8		0 6	7	0	.11	.16	14	238	37	23	.73	.034
3 oz[3]	85	11.3	2.8	4.8	2.8	69	24	.06	1.9	1.62	.62	289	184	1.22	.086	815
farmed, cooked by dry heat	129	60.9	15.9	0.0	0.0	0 0	13	1	.06	.14	6	68	8	22	.89	.017
3 oz	85	6.8	1.5	3.5	1 2	54	43	.36	2.1	2.38	.52	273	208	.70	.104	815
farmed, raw	115	64.1	13.2	0.0	0.0	0 0	13	1	.06	.16	9	45	8	20	.63	.015
3 oz	85	6.5	1.5	3.0	1.3	40	43	.31	2.0	2.10	.51,	254	172	.43	.086	815
wild, ckd by dry heat	89	66 1	15 7	0 0	0 0	0 0	13	1	.06	.09	9	43	9	24	.52	.023
3 oz	85	2 4	0.6	0.9	0 5	61	43	.19	2.0	2 47	.77	356	259	.30	033	815
wild, raw	81	68 3	13 9	0.0	0.0	0.0	13	1	.06	.10	9	37	12	20	.43	.021
3 oz	85	2.4	0.6	0.7	0.7	49	43	.18	1.6	1.90	.65	304	178	.26	.029	815
catfish fillets, frzn, Mrs. Paul's Light	280		15.7	19.2				0	.10			405	26			
4.5 oz	128	15 6	3.4		3.3	64	0	.09	1.7			295		1.20		1
catfish strips, frzn, Mrs. Pauls	246		12.4	18.9				0	.11			283	15			
4.0 oz	113	13.4					0	.31	1.8			272		.70		1
caviar, black & red, granular	40	7.6	3.9	0.6		0.0	90	0	.10	.05	8	210	44	48	.15	(XI8
1 T	16	2.9	0.6	0.7	1.2	94	299	.03	0 0	3.20	.56	29	57	1.90	.018	815
cisco, raw	83	67.1	16.2	0.0	0.0	0.0	26	0	.09	.26	13	47	10	14	.31	.057
3 oz	85	1.6	0.4	0.4	0.5	43	85	.07	2.1	.85	.64	301	129	.34	.061	815
cisco, smoked	151	59.4	13 9	0.0	0 0	0.0	241	0	14	23	2	409	22	14	.76	.018
3 oz	85	10.1	1.5	4.7	1.9	27	802	.04	2 0	3.62	.26	249	128	.42	.183	815
clam liquid, cnd	5	234.5	1.0	0.2		0.0	22	: 2	05	.02	5	516	31	26	.24	.178
1 cup	240	0.0	0.0	0.0	0.0	7	72	.02	0.4	12.00	.10	358	274	.72	.934	815
clams																
breaded & fried	172	52.3	12.1	8.8			77	9	.21	.05	15	310	54	12	1.24	.459
3 oz (9 small)[4]	85	9.5	2.3	3.9	2.4	52	257	.09	1.8	34.25	.37	277	160	11 83	.303	815
ckd by moist heat	126	54 1	21.7	4.4		0.0	145	19	.36	.09	24	95	78	15	2 32	.890
3 oz (19 small)[5]	85	1 7	0.2	0 1	0.5	57	485	.13	2.9	84.10	.58	534	287	23 78	585	815
cnd, drained	126	54.1	21.7	4.4		0.0	145	19	.36	.09	24	95	78	15	2.32	.850
3 oz	85	1.7	0.2	0.1	0.5	57	485	.13	2.9	84.05	.58	534	287	23.77	.585	815
fried, frzn, Mrs. Paul's	233		7.2	23.3				0	.07			380	21			
2.5 oz	71	12.4				6	22	.14	1.4			114		1.20		1
raw	63	69.6	10.9	2.2		0.0	77	11	.18	.05	14	48	39	8	1.17	.425
3 oz (4 large or 9 small)	85	0.8	0.1	0.1	0.2	29	255	.07	1.5	42.05	.31	267	144	11.89	.293	815
cod, atlantic																
ckd by dry heat	89	64.6	19 4	0.0	0.0	0.0	12	1	.07	.24	7	66	12	36	.49	.017
3 oz	85	0.7	0.1	0.1	0.2	47	39	.07	2.1	.89	.15	208	117	.42	.031	815
cnd	89	64.3	19.4	0 0	0.0	0.0	12	1	.07	.24	7	185	18	35	.49	.017
3 oz	85	0.7	0.1	0 1	0.2	47	39	.07	2.1	.89	.14	449	221	42	.031	815
dried & salted	247	13.7	53.4	0.0	0.0	0.0	36	3	.20	.73	21	5976	136	113	1.35	.043
3 oz	85	2.0	0.4	0.3	0.7	129	120	.23	6.4	8.50	1.42	1240	808	2.13	.150	815
fillets, frzn, Mrs. Paul's Light	268		15.3	26.5				0	.15			503	26			
4.5 oz	128	11.2	2.9		4.8	42	0	.12	1.6			347		1.00		1
raw	70	69.1	15.1	0.0	0.0	0.0	10	1	.06	.21	6	46	14	27	.38	.013
3 oz	85	0.6	0.1	0.1	0.2	37	34	.06	1.8	.77	.13	351	173	.32	.024	815
cod, pacific, ckd by dry heat	89	64.6	19 5	0.0	0 0	0.0	9	3	.04	.39	7	77	8	26	.43	.013
3 oz	85	0.7	0.1	0.1	0.3	40	27	.02	2.1	.88	.14	440	190	.28	.028	815
cod, pacific, raw	70	69.1	15.2	0.0	0.0	0.0	7	2	.04	.34	6	60	6	20	.34	.010
3 oz	85	0.5	0.1	0.1	0.2	31	24	.02	1.7	.77	.12	343	148	.22	.022	815

	KCAL / WT (g)	H_2O (g) / FAT (g)	PRO (g) / SFA (g)	CHO (g) / MUFA (g)	SUGR (g) / PUFA (g)	DFIB (g) / CHOL (mg)	Vitamins: A (RE) / A (IU)	C (mg) / B-1 (mg)	B-2 (mg) / NIA (mg)	B-6 (mg) / B-12 (mcg)	FOL (mcg) / PANT (mg)	Minerals: Na (mg) / K (mg)	Ca (mg) / P (mg)	Mg (mg) / Fe (mg)	Zn (mg) / Cu (mg)	Mn (mg) / REF
crab, alaska king																
ckd by moist heat	82	66.0	16.5	0.0	0.0	0.0	8	6	.05	.15	43	912	80	54	6.48	.034
3 oz	85	1.3	0.1	0.2	0.5	45	25	.05	1.1	9.78	.34	223	238	.65	1.005	815
imitation, made from surimi	87	62.7	10.2	8.7		0.0	17	0	.02	.03	1	715	11	37	.28	.009
3 oz	85	1.1	0.2	0.2	0.6	17	56	.03	0.2	1.36	.06	77	240	.33	.027	815
raw	71	67.7	15.6	0.0	0.0	0.0	6	6	.04	.13	37	711	39	42	5.06	.030
3 oz	85	0.5	0.1	0.1	0.1	36	20	.01	0.9	7.65	.30	174	186	.50	.784	815
crab, blue																
ckd by moist heat	87	65.9	17.2	0.0	0.0	0.0	2	3	.01	.15	43	237	88	28	3.59	.162
3 oz	85	1.5	0.2	0.2	0.6	85	5	.09	2.8	6.21	.37	276	175	77	.549	815
cnd	84	64.8	17.5	0.0	0.0	0.0	2	2	.07	.13	36	283	86	33	3.42	.162
3 oz	85	1.0	0.2	0.2	0.4	76	4	.07	1.2	.39	.31	318	221	.71	.646	815
raw	74	67.2	15.4	0.0		0.0	2	3	.03	.13	37	249	76	29	3.01	.128
3 oz	85	0.9	0.2	0.2	0.3	66	4	.07	2.3	7.65	.30	280	195	.63	.569	815
crab cake	93	42.6	12.1	0.3		0.0	49	2	.05	.10	25	198	63	20	2.45	.114
1 cake[4]	60	4.5	0.9	1.7	1.4	90	151	.05	1.7	3.56	.30	194	128	.65	.366	815
crab, devilled, frzn, Mrs. Paul's	186		7.7	19.4				0	.11			432	87			
3 oz	85	8.7				33	59	.12	0.8			118		1.10		I
crab, devilled mineatures, frzn, Mrs.	249		8.5	28.3				0	.31			475	116			
Paul's—3.5 oz	99	11.3					0	.16	1.4			185		1.60		I
crab, dungeness, ckd by moist heat	94	62.4	19.0	0.8		0.0	26	3	.17	.15	36	321	50	49	4.65	.082
3 oz	85	1.1	0.1	0.2	0.3	65	88	.05	3.1	8.83	.34	347	149	.37	.624	815
crab, dungeness, raw	73	67.3	14.8	0.6		0.0	23	3	.14	.13	37	251	39	38	3.63	.068
3 oz	85	0.8	0.1	0.1	0.3	50	77	.04	2.7	7.65	.30	301	155	.31	.573	815
crab, queen, ckd by moist heat	98	63.9	20.2	0.0	0.0	0.0	44	6	.21	.15	36	588	28	54	3.05	.031
3 oz	84	1.3	0.2	0.3	0.5	60	147	.08	2.5	8.83	.34	170	109	2.45	.528	815
crab, queen, raw	77	68.5	15.7	0.0	0.0	0.0	38	6	.17	.13	37	458	22	42	2.38	.026
3 oz	85	1.0	0.1	0.2	0.4	47	128	.07	2.1	7.65	.30	147	113	2.13	.485	815
crayfish																
farmed, ckd by moist heat	74	68.7	14.9	0.0	0.0	0.0	13	0	.07	.11	9	82	43	28	1.26	.185
3 oz	85	1.1	0.2	0.2	0.4	117	43	.04	1.4	2.64	.44	202	205	.94	.493	815
farmed, raw	61	71.5	12.6	0.0	0.0	0.0	13	0	.03	.06	26	53	21	26	.86	.124
3 oz	85	0.8	0.1	0.2	0.3	91	43	.04	1.6	1.79	.48	222	185	.47	.202	815
wild, ckd by moist heat	75	67.5	14.3	0.0	0.0	0.0	13	1	.07	.06	37	80	51	28	1.50	.444
3 oz	85	1.0	0.2	0.2	0.3	113	43	.04	1.9	1.83	.49	252	230	.71	.583	815
wild, raw	65	69.9	13.6	0.0	0.0	0.0	14	1	.03	.09	31	49	23	23	1.11	.192
3 oz	85	0.8	0.1	0.1	0.2	97	44	.06	1.9	1.70	.46	257	218	.71	.356	815
croaker, atlantic, breaded & fried	188	50.8	15.5	6.4		0.4	19	0	.11	.22	15	296	27	36	.44	.068
3 oz[4]	85	10.8	3.0	4.8	2.5	71	64	.08	3.7	1.79	.63	289	185	.73	.055	815
croaker, atlantic, raw	88	66.4	15.1	0.0	0.0	0.0	15	0	.08	.26	13	48	13	34	.36	.021
3 oz	85	2.7	0.9	1.0	0.4	52	51	.06	3.6	2.13	.64	293	179	.31	.036	815
cusk, ckd by dry heat	95	59.3	20.7	0.0	0.0	0.0	18	0	.14	.38	2	34	11	34	.42	.016
3 oz	85	0.7				45	59	.04	2.8	1.02	.27	428	223	.90	.020	815
cusk, raw	74	64.9	16.2	0.0	0.0	0.0	15	0	.11	.33	2	26	[illegible]	26	.32	.013
3 oz	85	0.6	0.1	0.1	0.2	35	51	.04	2.3	.89	.24	333	174	.71	.015	815
cuttlefish, ckd by moist heat	134	52.0	27.6	1.4		0.0	173	7	1.47	.23	20	633	153	51	2.94	.178
3 oz	85	1.2	0.2	0.1	0.2	191	574	.01	1.9	4.59	.77	542	493	9.22	.849	815
cuttlefish, raw	67	68.5	13.8	0.7		0.0	95	5	.77	.13	14	316	77	26	1.47	.094
3 oz	85	0.6	0.1	0.1	0.1	95	319	.01	1.0	2.55	.43	301	329	5.12	.499	815
dolphinfish, ckd by dry heat	93	60.6	20.2	0.0	0.0	0.0	53	0	.07	.39	5	96	16	32	.50	.016
3 oz	85	0.8	0.2	0.1	0.2	80	177	.02	6.3	.39	.74	453	156	1.23	.045	815
dolphinfish, raw	72	66.0	15.7	0.0	0.0	0.0	46	0	.06	.34	4	75	13	26	.39	.013
3 oz	85	0.6	0.2	0.1	0.1	62	153	.02	5.2	.51	.64	354	122	.96	.035	815
drum, freshwater, ckd by dry heat	130	60.3	19.1	0.0	0.0	0.0	50	1	.18	.29	14	82	65	32	.72	.763
3 oz	85	5.4	1.2	2.4	1.3	70	167	.07	2.4	1.96	.74	300	196	.98	.253	815
drum, freshwater, raw	101	65.8	14.9	0.0	0.0	0.0	43	1	.14	.26	13	64	51	26	.56	.595
3 oz	85	4.2	1.0	1.9	1.0	54	145	.06	2.0	1.70	.64	234	153	.77	.197	815
fish cakes, frzn, Mrs. Paul's	241		11.0	25.9				0	.25			783	75		.	-
4 oz	113	10.3					0	.16	1.5			230		1.50		I

	KCAL / WT (g)	H_2O (g) / FAT (g)	PRO (g) / SFA (g)	CHO (g) / MUFA (g)	SUGR (g) / PUFA (g)	DFIB (g) / CHOL (mg)	Vitamins: A (RE) / A (IU)	C (mg) / B-1 (mg)	B-2 (mg) / NIA (mg)	B-6 (mg) / B-12 (mcg)	FOL (mcg) / PANT (mg)	Minerals: Na (mg) / K (mg)	Ca (mg) / P (mg)	Mg (mg) / Fe (mg)	Zn (mg) / Cu (mg)	Mn (mg) / ALT
CHEESE & CHEESE PRODUCTS																
CHEESE																
american & swiss, processed,	101		5.8	0.7				0	.10			443	172			
Land O'Lakes—*1 oz*	28	8.3	5.2	2.2	0.3	26	269	.01	0.0			36	179	.13		1
american processed	106	11.1	6.3	0.5		0.0	82	0	.10	.02	2	406	174	6	85	.004
1 oz	28	8.9	5.6	2.5	0.3	27	343	.01	0.0	.20	.14	46	211	.11	.009	801
extra melt, Land O'Lakes	104		5.6	0.7				0	.10			428	160			
1 oz	28	8.8	5.5	2.3	0.3	27	291	.01	0.0			38	173	.15		1
Harvest Moon	70		4.0	0.0	0.0	0.0		0	.07			320	100	0	.60	
⅔ oz slice	19	6.0	4.0			20	200			12		15	150	.00		1
Kraft	110		5.0	1.0	0.0	0.0		0	.10			460	150	0	.60	
1 oz slice	28	9.0	6.0			25	300			.12		25	200	.00		1
Old English	110		6.0	1.0	0.0	0.0		0	.10			460	150	0	.60	
1 oz slice	28	9.0	6.0			30	300			.12		20	200	.00		1
sharp, Land O'Lakes	102		5.9	0.5				0	.09			440	171		.00	
1 oz	28	8.6	5.4	2.2	0.3	27	279	.01	0.0			29	269	.16		1
blue	100	12.0	6.1	0.7		0.0	65	0	.11	.05	10	396	150	7	.75	.003
1 oz	28	8.1	5.3	2.2	0.2	21	204	.01	0.3	.35	.49	73	110	.09	.011	801
brick	105	11.7	6.6	0.8		0.0	86	0	.10	.02	6	159	191	7	.74	.003
1 oz	28	8.4	5.3	2.4	0.2	27	307	.00	0.0	.36	.08	38	128	.12	.007	801
brie	95	13.7	5.9	0.1		0.0	52	0	.15	.07	18	178	52	6	.67	.010
1 oz	28	7.8	4.9	2.3	0.2	28	189	.02	0.1	.47	20	43	53	.14	.005	801
camembert	85	14.7	5.6	0.1		0.0	71	0	.14	.06	18	239	110	6	.67	.011
1 oz	28	6.9	4.3	2.0	0.2	20	262	.01	0.2	.37	.39	53	98	.09	.006	801
caraway	107	11.1	7.1	0.9		0.0	82	0	.13	.02	5	196	191	6	.83	.006
1 oz	28	8.3	5.3	2.3	0.2	26	299	.01	0.1	.08	.05	26	139	.18	.007	801
cheddar	114	10.4	7.1	0.4	0.5	0.0	86	0	.11	.02	5	176	204	8	.88	.003
1 oz	28	9.4	6.0	2.7	0.3	30	300	.01	0.0	.23	.12	28	145	.19	.009	801
	403	36.8	24.9	1.3	1.8	0.0	303	0	.38	.07	18	621	721	28	3.11	.010
3.5 oz	100	33.1	21.1	9.4	0.9	105	1059	.03	0.1	.83	.41	98	512	.68	.031	801
	455	41.5	28.1	1.4	2.0	0.0	342	0	.42	.08	21	701	815	31	3.51	.011
1 cup, not packed	113	37.4	23.8	10.6	1.1	119	1197	.03	0.1	.93	.47	111	579	.77	.035	801
extra sharp, processed, Land O'Lakes	100		6.0	1.0								370				
1 oz	28	9.0	6.0	2.0	0.0	30						30				1
fat free, shredded, Kraft Healthy	45		10.0	1.0	0.0	0.0		0	.14			220	250	8	1.20	
Favorites—*¼ cup*	29	0.0	0.0	0.0	0.0	5	400			.24		20	150	.00		1
low-fat	49	17.9	6.9	0.5		0.0	18	0	.06	.01	3	174	118	5	.52	.002
1 oz	28	2.0	1.2	0.6	0.1	6	66	.00	0.0	.14	.05	19	137	.12	.006	801
low sodium	113	11.1	6.9	0.5		0.0	82	0	.11	.02	5	6	199	8	.88	.003
1 oz	28	9.2	5.9	2.6	0.3	28	297	.01	0.0	.24	.09	32	137	.20	.010	801
nacho blend w/ peppers, Kraft	110		7.0	0.0	0.0	0.0		0	.10			250	200	0	1.20	
1 oz	28	9.0	6.0			30	300			.24		15	150	.00		1
sharp, red fat, Kraft	80		9.0	1.0	0.0	0.0		0	.14			220	250	8	1.20	
1 oz	28	5.0	3.0			20	300			.24		20	150	.00		1
cheddar & bacon, processed,	110		6.0	1.0								350	-			
Land O'Lakes—*1 oz*	28	9.0	5.0	3.0	0.0	25						30				1
cheddar/colby/monterey, red fat, Kraft	80		9.0	0.0	0.0	0.0		0	.14			220	250	8	1.20	
1 oz	28	5.0	3.5			20	300			.24		15	150	.00		1
cheshire	110	10.7	6.6	1.4		0.0	69	0	.08	.02	5	198	182	6	.79	.003
1 oz	28	8.7	5.5	2.5	0.2	29	279	.01	0.0	.23	.12	27	131	.06	.012	801
colby	112	10.8	6.7	0.7		0.0	78	0	.11	.02	5	171	194	7	.87	.003
1 oz	28	9.1	5.7	2.6	0.3	27	293	.00	0.0	.23	.06	36	129	.22	.012	801
cottage cheese																
1% fat	164	186.4	28.0	6.1		0.0	25	0	.37	.15	28	918	138	12	.86	.007
1 cup	226	2.3	1.5	0.7	0.1	10	84	.05	0.3	1.43	.49	193	302	.32	.063	801
2% fat	203	179.2	31.1	8.2		0.0	45	0	.42	.17	30	918	155	14	.95	.007
1 cup	226	4.4	2.8	1.2	0.1	19	158	.05	0.3	1.61	.55	217	340	.36	.063	801
creamed	29	22.1	3.5	0.8	0.2	0.0	13	0	.05	.02	3	113	17	1	.10	.001
1 rd T	28	1.3	0.8	0.4	0.0	4	46	.01	0.0	.17	.06	24	37	.04	.008	801

	KCAL	H₂O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	A (RE)	C (mg)	B2 (mg)	B6 (mg)	FOL (mcg)	Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B1 (mg)	NIA (mg)	B12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	SEL
creamed	117	89.2	14.1	3.0	0.7	0.0	54	0	.18	.08	14	457	68	6	.42	.004
4 oz	113	5.1	3.2	1.5	0.2	17	184	.02	0.1	.70	.24	95	149	.16	.032	.001
creamed	217	165.8	26.2	5.6	1.3	0.0	101	0	.31	.14	26	850	126	11	.78	.006
1 cup, not packed	210	9.5	6.0	2.7	0.3	31	342	.04	0.3	1.31	.45	177	277	.30	.059	.001
creamed w/ fruit	279	162.9	22.4	30.1		0.0	81	0	.29	.12	22	915	108	9	.66	.007
1 cup	226	7.7	4.9	2.2	0.2	25	278	.04	0.2	1.12	.38	151	236	.25	.063	.001
dry curd	123	115.7	25.0	2.7		0.0	12	0	.21	.12	21	19	46	6	.68	.004
1 cup, not packed	145	0.6	0.4	0.2	0.0	10	41	.04	0.2	1.20	.24	47	151	.33	.041	.001
nonfat, Knudsen	80		15.0	4.0	2.0	0.0		0	.17			570	60			
½ cup	122	0.0	0.0	0.0	0.0	10	200	.00		.40		75	150	.00		1
cream cheese	99	15.2	2.1	0.8	0.5	0.0	121	0	.06	.01	4	84	23	2	.15	.001
1 oz (2 T)	28	9.9	6.2	2.8	0.4	31	405	.00	0.0	.12	.08	34	30	.34	.005	.001
soft, fat-free, Philadelphia Brand	30		5.0	2.0	1.0	0.0		0	.02			160	100	0	.30	
2 T	33	0.0	0.0	0.0	0.0	5	500			.12		65	150	.00		1
soft, flavored, Philadelphia Brand	103		1.7	2.7	1.0	0.0		0	.50			138	23	0	.02	
2 T¹	31	9.3	6.3		0.3	30	333			.00		53	23	.00		1
soft, light, Philadelphia Brand	70		3.0	2.0	2.0	0.0		0				150	40	0	.00	
2 T	32	5.0	3.5			15	400			.00		55	40	.00		1
soft, Philadelphia Brand	100		2.0	1.0	1.0	0.0		0	.03			100	20	0	.00	
2 T	30	10.0	7.0			30	300			.00		40	20	.00		1
whipped, Philadelphia Brand	110		2.0	1.0	1.0	0.0		0	.03			95	20	0	.00	
3 T	31	11.0	7.0			35	400			.00		35	20	.00		1
edam	101	11.8	7.1	0.4		0.0	72	0	.11	.02	5	274	207	8	1.06	.001
1 oz	28	7.9	5.0	2.3	0.2	25	260	.01	0.0	.44	.08	53	152	.12	.010	.001
farmers, Kraft	100		6.0	1.0	0.0	0.0		0	.03			190	200	0	1.20	
1 oz	28	8.0	6.0			25	300			.48		25	150	.00		1
feta	75	15.7	4.0	1.2		0.0	36	0	.24	.12	9	316	140	5	.84	.008
1 oz	28	6.0	4.2	1.3	0.2	25	127	.04	0.3	.48	.27	18	96	.18	.009	.001
fontina	110	10.8	7.3	0.4		0.0	82	0	.06	.02	2	227	156	4	.99	.004
1 oz	28	8.8	5.4	2.5	0.5	33	333	.01	0.0	.48	.12	18	98	.07	.007	.001
gjetost	132	3.8	2.7	12.1		0.0	78	0	.39	.08	1	170	113	20	.32	.011
1 oz	28	8.1	5.4	2.2	0.3	27	316	.09	0.2	.69	.95	399	126	.15	.023	.001
goat																
hard	128	8.2	8.7	0.6		0.0	135	0	.34	.02	1	98	254	15	.45	.021
1 oz	28	10.1	7.0	2.3	0.2	30	451	.04	0.7	.01	.12	14	207	.51	.178	.001
semi-soft	103	12.9	6.1	0.7		0.0	113	0	.19	.02	1	146	84	8	.19	.026
1 oz	28	8.5	5.9	1.9	0.2	22	378	.02	0.3	.06	.05	45	106	.46	.160	.001
soft	76	17.2	5.3	0.3		0.0	80	0	.11	.07	3	104	40	5	.26	.024
1 oz	28	6.0	4.1	1.4	0.1	13	267	.02	0.1	.05	.19	7	73	.54	.208	.001
gouda	101	11.8	7.1	0.6		0.0	49	0	.09	.02	6	232	198	8	1.11	.003
1 oz	28	7.8	5.0	2.2	0.2	32	183	.01	0.0	.44	.10	34	155	.07	.010	.001
gruyere	117	9.4	8.5	0.1		0.0	85	0	.08	.02	3	95	287	10	1.11	.005
1 oz	28	9.2	5.4	2.8	0.5	31	316	.02	0.0	.45	.16	23	172	.05	.009	.001
havarti, Kraft	120		6.0	0.0	0.0	0.0		0	.10			240	150	0	.90	
1 oz	28	11.0	7.0			35	300			.12		10	100	.00		1
italian blend, grated, Kraft	25		3.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00			95	80	0	.30	
2 t	6	1.5	1.0			5	0			.24		0	60	.00		1
jalapeno jack, processed, Land O'Lakes	90		8.0	1.0								430				
1 oz	28	8.0	5.0	2.0	0.0	20						25				1
limburger	93	13.7	5.7	0.1		0.0	90	0	.14	.02	16	227	141	6	.60	.011
1 oz	28	7.7	4.7	2.4	0.1	26	363	.02	0.0	.29	.33	36	111	.04	.006	.001
monterey	106	11.6	6.9	0.2		0.0	72	0	.11	.02	5	152	212	8	.85	.003
1 oz	28	8.6	5.4	2.5	0.3	25	269	.00	0.0	.23	.06	23	126	.20	.009	.001
monterey jack, hot pepper, Land O'Lakes	110		7.0	0.0	0.0							150				
1 oz	28	9.0	5.0	3.0	0.0	20						25				1
mozzarella																
low moisture	90	13.7	6.1	0.7		0.0	78	0	.08	.02	2	118	163	6	.70	.001
1 oz	28	7.0	4.4	2.0	0.2	25	256	.00	0.0	.21	.02	21	117	.06	.006	.001
part skim	72	15.2	6.9	0.8		0.0	50	0	.09	.02	3	132	183	7	.78	.003
1 oz	28	4.5	2.9	1.3	0.1	16	166	.01	0.0	.23	.02	24	131	.06	.007	.001

	KCAL	H_2O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	Vitamins A (RE)	C (mg)	B-2 (mg)	B-6 (mg)	FOL (mcg)	Minerals Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B-1 (mg)	NIA (mg)	B-12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	RIF
MISCELLANEOUS																
baking choc, unsweetened	146	0.4	2.9	7.9		4.3	3	0	.05	.03	2	4	21	87	1.12	.537
1 oz square	28	15.5	9.1	5.2	0.5	0	27	.02	0.3	.00	.06	233	117	1.77	.607	819
Bakers	140		3.0	9.0	0.0	4.0	0	0				0	20			
1 oz square	28	14.0	9.0			0	0					290		2.70		1
Hershey	89		2.0	4.1	0.1	2.2	0	0				3	12			
½ bar (.5 oz)	14	7.2	4.4			0	0							.82		1
liquid	132	0.3	3.4	9.5		3.7	1	0	.04	.02	2	3	15	74	1.03	.462
1 oz pkt	28	13.4	7.1	2.6	3.0	0	5	.01	0.6	.00	.05	326	95	1.16	.535	819
Nestle Chocobake	80		1.0	5.0	0.0	3.0	0	0				0	0			
.5 oz	14	8.0	5.0			0	0							70		1
Nestle Toll House	80		2.0	5.0	0.0	3.0	0	0				0	0			
.5 oz	14	7.0	2.0			0	0							.70		1
baking powder																
Calumet	0		0.0	0.0	0.0	0.0	0	0				100	40			
½ t	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0							.00		1
double-acting, sodium aluminum sulfate	3	0.3	0.0	1.4		0.0	0	0	.00	.00	0	530	294	1	.00	.001
1 t	5	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	1	110	.85	.001	818
double-acting, straight phosphate	3	0.2	0.0	1.2		0.0	0	0	.00	.00	0	395	368	2	.00	.001
1 t	5	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	0	496	56	.001	818
low sodium	5	0.3	0.0	2.3		0.1	0	0	.00	.00	0	8	217	1	.04	.021
1 t	5	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	505	343	.41	.001	818
baking soda (sodium bicarbonate)	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	.00	0	1368	0	0	.00	.000
1 t	5	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	0	0	.00	.000	818
cocoa, unsweetened, dry powder	11	0.2	1.0	2.7		1.7	0	0	.01	.01	2	1	6	25	.34	.192
1 T	5	0.7	0.4	0.2	0.0	0	1	.00	0.1	.00	.01	76	37	.69	.189	819
baking, Nestle	15		1.0	3.0	0.0	2.0	0	0				0	0			
1 T	5	1.0	0.0			0	0							.36		1
european style, Hershey	21	0.1	1.2	2.6	0.0	1.4	0	0	.01	.01	2	1	8	28	.37	.289
1 T	5	0.5	0.3			0	0	.00	0.2	.00	.01	257	42	2.10	.197	[illegible]
Hershey	21		1.3	2.7	0.0	1.4	0	0				1	9			
1 T	5	0.5	0.3			0	0							.69		1
processed w/ alkali	11	0.1	0.9	2.7		1.5	0	0	.02	.01	2	1	6	24	.32	.187
1 T	5	0.7	0.4	0.2	0.0	0	1	.01	0.1	.00	.01	125	36	.78	.180	819
corn starch, Argo & Kingsford's	30	0.8	0.0	7.2		0.0						0				
1 T	8	0.0														1
corn starch, Cream	40		0.0	9.0	0.0	0.0	0	0				0	0			
1 T	10	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0							.00		1
cream of tartar (potassium acid tartrate)	8	0.1	0.0	1.8		0.0	0	0	.00	.00	0	2	0	0	.01	.006
1 t	3	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.00	495	0	.11	.006	818
fruit pectin	39	1.0	0.0	10.8		1.0	0	0	.01	.00	0	24	1	0	.06	.008
¼ pkt	12	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.01	1	0	.33	.050	819
fruit pectin, Sure-Jell	5		0.0	1.0	1.0	0.0	0	0				1	0	0	.00	
½ t	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0					0	0	.00	.000	1
fruit protector, Ever-Fresh	5		0.0	1.0	1.0	0.0	0	60				0	0			
½ t	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0					0		.00		1
gelatin, dry, unsweetened	23	0.9	6.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.02	.00	2	14	4	2	.01	.007
1 pkt	7	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	.00	0.0	.00	.01	1	3	.08	.151	819
gelatin, unflavored, Knox	35		6.0	3.0								15				
1 pkt	10	0.0	0.0	0.0	0.0											1
olives, pickled, ripe, manzanillo/mission	4	2.6	0.0	0.2		0.1	1	0	.00	.00	0	28	3	0	.01	.001
1 small	3.2	0.3	0.0	0.3	0.0	0	13	.00	0.0	.00	.00	0	0	.11	.008	809
	5	3.2	0.0	0.3		0.1	2	0	.00	.00	0	35	4	0	.01	.001
1 med	4	0.4	0.1	0.3	0.0	0	16	.00	0.0	.00	.00	0	0	.13	.010	809
	5	3.5	0.0	0.3		0.1	2	0	.00	.00	0	38	4	0	.01	.001
1 large	4.4	0.5	0.1	0.3	0.0	0	18	.00	0.0	.00	.00	0	0	.15	.011	809

							Vitamins					Minerals				
	KCAL	H_2O (g)	PRO (g)	CHO (g)	SUGR (g)	DFIB (g)	A (RE)	C (mg)	B-2 (mg)	B-6 (mg)	FOL (mcg)	Na (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Zn (mg)	Mn (mg)
	WT (g)	FAT (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHOL (mg)	A (IU)	B-1 (mg)	NIA (mg)	B-12 (mcg)	PANT (mg)	K (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Cu (mg)	REF
	7	4.8	0.1	0.4		0.2	2	0	.00	.00	0	52	5	0	.01	.001
1 extra large	6	0.6	0.1	0.5	0.1	0	24	.00	0.0	.00	.00	0	0	.20	.015	809
olives, pickled, ripe, sevillano/ascolano	7	7.0	0.1	0.5		0.2	3	0	.00	.00	0	75	8	0	.02	.002
1 jumbo	8	0.6	0.1	0.4	0.0	0	29	.00	0.0	.00	.00	1	0	.28	.019	809
	9	9.5	0.1	0.6		0.3	4	0	.00	.00	0	101	11	0	.02	.002
1 colossal	11	0.8	0.1	0.6	0.1	0	39	.00	0.0	.00	.00	1	0	.38	.026	809
	12	12.8	0.1	0.9		0.4	5	0	.00	.00	0	136	14	1	.03	.003
1 super colossal	15	1.0	0.1	0.8	0.1	0	53	.00	0.0	.00	.00	1	0	.50	.034	809
pickle relish																
hamburger	19	9.2	0.1	5.2		0.5	4	0	.01	.00	0	164	1	1	.02	.002
1 T	15	0.1	0.0	0.0	0.0	0	40	.00	0.1	.00	.00	11	3	.17	.012	811
hamburger, Del Monte	20		0.0	6.0	5.0		0				220	0				
1 T	17	0.0	0.0	0.0	0.0	0	200							.00		I
hot dog	14	10.7	0.2	3.5		0.2	3	0	.01	.00	0	164	1	3	.03	.002
1 T	15	0.1	0.0	0.0	0.0	0	25	.01	0.1	.00	.00	12	6	.19	.012	811
hot dog, Del Monte	15		0.0	4.0	3.0	0	0				140	0				
1 T	16	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0							.00		I
sweet	20	9.3	0.1	5.3		0.2	2	0	.00	.00	0	122	0	1	.02	.002
1 T	15	0.1	0.0	0.0	0.0	0	23	.00	0.0	.00	.00	4	2	.13	.013	811
sweet, Del Monte	20		0.0	5.0	5.0	0.0	0	0				125	0			
1 T	16	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0							.00		I
pickles, bread & butter	11	11.8	0.1	2.7				1	.00			101	5			
2 slices	15	0.0					20	.00	0.0				4	30		456
Claussen	5	26.0	0.2	0.9	0.4	0.5	0	0				315	16	2	.04	
1 oz	28	0.1	0.0	0.0	0.0	0	0					45	9	.11	.030	I
Claussen	19	22.9	0.2	4.3	3.3	0.3	0	1				175	14	3	.08	
4 slices	28	0.1	0.0	0.0	0.0	0	0					32	13	.13	.040	I
Vlasic	30		0.0	7.0	7.0	0.0	0	0				180	0			
1 oz	28	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0							.00		I
pickles, chow chow, sour	35	105.1	1.7	4.9								1605	38			
½ cup[2]	120	1.5											63	3.10		456
pickles, chow chow, sweet	142	84.1	1.8	33.1								645	28			
½ cup[2]	122	1.1											27	1.80		456
pickles, dill	1	5.5	0.0	0.2		0.1	2	0	.00	.00	0	77	1	1	.01	.001
1 slice	6	0.0	0.0	0.0	0.0	0	20	.00	0.0	.00	.00	7	1	.03	.005	811
	12	59.6	0.4	2.7		0.8	21	1	.02	.01	1	833	6	7	.09	.010
1 large (3 ¾" long, 1 ¼" dia)	65	0.1	0.0	0.0	0.1	0	214	.01	0.0	.00	.04	75	14	.34	.051	809
halves, Del Monte	5		0.0	0.0	0	0				370	40					
1 oz	28	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0							.00		I
hamburger chips, Del Monte	5		0.0	0.0	0.0	0.0	0	0				300	20			
5 chips (1 oz)	28	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0							.36		I
kosher halves, Claussen	4	32.1	0.3	0.7	0.3	0.3	0	1				326	18	4	.10	
1 spear	34	0.1	0.0	0.0	0.0	0	0					40	13	.22	.060	I
kosher halves, Claussen	4	26.4	0.1	0.5	0.2	0.3	0	1				325	19	2	.04	
½ pickle	28	0.1	0.0	0.0	0.0	0	0					30	16	.11	.020	I
kosher slices, Claussen	4	28.2	0.1	0.4	0.3	0.3	0	0				394	35	4	.07	
10 slices	30	0.2	0.1	0.0	0.1	0	0					29	5	.23	.060	I
kosher, tiny, Del Monte	5		0.0	1.0	0.0	0	0					240	20			
1 ½ pickles (1 oz)	28	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0							.00		I
kosher, whole, Claussen	3	26.3	0.2	0.5	0.3	0.3	0	1				328	18	3	.05	
½ pickle	28	0.1	0.0	0.0	0.0	0	0					34	11	.12	.030	I
mini, Claussen	4	21.4	0.2	0.5	0.4	0.2	0	1				286	13	3	.05	
1 pickle	23	0.1	0.0	0.0	0.0	0	0					31	8	.15	.040	I
Vlasic	5		0.0	1.0	1.0	0.0	0	0				270	0			
1 oz[3]	28	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0							.00		I
pickles, sour	4	32.9	0.1	0.8		0.4	5	0	.00	.00	0	423	0	1	.01	.004
1 med (3 ¾" long, 1 ½" dia)	35	0.1	0.0	0.0	0.0	0	51	.00	0.0	.00	.01	8	5	.14	.030	811
pickles, sour, half, New York Deli	4	26.4	0.3	0.5		0.3	0	1				266	18	4	.07	
Style, Claussen—*½ pickle*	28	0.1	0.0	0.0	0.0	0	0					36	6	.22	.070	I
pickles, sweet	41	22.8	0.1	11.1		0.4	5	0	.01	.01	0	329	1	1	.03	.005
1 large (3" long, ¾" dia)	35	0.1	0.0	0.0	0.0	0	44	.00	0.1	.00	.04	11	4	.21	.037	811

رقم الإيداع ١٤٤٩٨/٢٠٠٢
الترقيم الدولى 9 - 0850 - 09 - 977

مطابع الشروق
القاهرة :٨ شارع سيبويه المصرى ـ ت:٤٠٢٣٣٩٩ ـ فاكس:٤٠٣٧٥٦٧ (٠٢)
بيروت : ص.ب: ٨٠٦٤ ـ هاتف : ٣١٥٨٥٩ـ ٨١٧٢١٣ـ فاكس : ٨١٧٧٦٥ (٠١)